

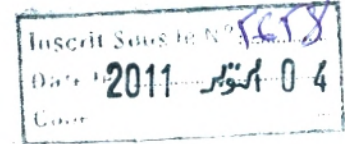
MAST-BIO-128 / 01

République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université ABOUBEKR BELKAID-TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie
mémoire :

En fin d'étude en vue d'obtention du diplôme de Master Académique en
biologie
Option : Microbiologie



Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des lipides totaux et des composés phénoliques des graines de *Foeniculum vulgare* Mill « *Besbes* » de la région de Tlemcen

Présenté par :

Mme Hamçdi Sarah née Gaouar



Devant le jury composé de :

- | | | |
|-------------|--------------|-----------------------|
| Président : | Mr Bendahou | Maitre de conférences |
| Examineur : | Mr Beghdad | Maitre de conférences |
| Examineur : | Mr Benammar | Maitre de conférences |
| Promoteur : | Mme Bensalah | Maitre assistante |



MAST_BIO_128 / 01

République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université ABOUBEKR BELKAID-TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie
mémoire :

En fin d'étude en vue d'obtention du diplôme de Master Académique en
biologie
Option : Microbiologie

Inscrit sous le N° **128**
Date : **2011** **04** **نوفمبر**
Cours

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des lipides totaux et des composés phénoliques des graines de *Foeniculum vulgare* Mill « *Besbes* » de la région de Tlemcen

Présenté par :

Mme Hamzdi Sarah née Gaouar



Devant le jury composé de :

- | | | |
|-------------|--------------|-----------------------|
| Président : | Mr Bendahou | Maitre de conférences |
| Examineur : | Mr Beghdad | Maitre de conférences |
| Examineur : | Mr Benammar | Maitre de conférences |
| Promoteur : | Mme Bensalah | Maitre assistante |



République Algérienne Démocratique et Populaire
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université ABOUBEKR BELKAID-TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie
mémoire :
En fin d'étude en vue d'obtention du diplôme de Master Académique en
biologie
Option : Microbiologie

Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des lipides totaux et des composés phénoliques des graines de *Foeniculum vulgare Mill* « *Besbes* » de la région de Tlemcen

Présenté par :

Mme Hamèdi Sarah née Gaouar

Devant le jury composé de :

Président : Mr Bendahou Maitre de conférences

Examineur : Mr Beghdad Maitre de conférences

Examineur : Mr Benammar Maitre de conférences

Promoteur : Mme Bensalah Maitre assistante

2010-2011



Dédicaces

À l'aide de dieu le tout puissant j'ai pu réaliser ce modeste travail que je le dédié :

À Mes chers parents...

Témoignage d'affection et de grande reconnaissance, qui ont toujours été la pour moi, et qui m'ont donné un magnifique model de persévérance, j'espère qu'ils trouvent dans ce travail toute ma gratitude et tout mon amour.

À la personne la plus chère de ma vie qui a su m'apporter tendresse et amour, mon chère Mari, toujours soucieux de ma réussite, en témoignage du respect et de la gratitude que je lui porte.

À :

Mon chouchou fils Mohammed Charaf Eddine

Mes frères : Zakaria, Zine Eddine, Abde Elhak

Mes sœurs : Fatima, Meriem et leurs maris, Soumia

Ma belle mère

Mes belles sœurs : Tsouria, Nassima, Hayèt et Sabiha et leurs enfants

Mes beaux frères : Djamel, Amine, Lotfi

Mes cousines : Mokhtaria, Amira, Asma T, Asma B, Nacima, Meriem et Fouzia.

Toute ma famille et mes amies

Liste des tableaux

Tableau 1 : Usages thérapeutiques de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	04
Tableau 2 : Teneurs moyennes en protéines du fenouil (exprimé en % par rapport à la MS)..	05
Tableau 3 : Teneurs moyennes en lipides du fenouil (exprimé en % par rapport à la MS)....	06
Tableau 4 : Composition moyenne de métabolite primaire pour 100g de la plante fraîche...	07
Tableau 5: Sources alimentaires des flavonoïdes.....	11
Tableau 6 : Activités biologiques de certains polyphénols.....	14
Tableau 7 : Teneurs en essence de différentes variétés de fenouil.....	15
Tableau 8 : Composition chimique d'huile essentielle de <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	16
Tableau 9 : Classement des huiles végétales en fonction de leur indice d'Iode.....	19
Tableau 10 : Origine des souches utilisées.....	29
Tableau 11 : les antibiotiques utilisés	31
Tableau 12 : Tests phytochimiques sur graine de <i>Foeniculum vulgare</i> mill.....	34

Liste des abréviations :

C° : degré Celsius

sp: espèce

cm : centimètre

g : gramme

m : mètre

mg : milligramme

N° : Numéro

V : Volume

H : heure

UF/g : Unité Formant par Gramme

UFC : Unité Formant colonies

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

µg : microgramme

% : pourcentage

Tr : traces

T° : température

Kg : kilogramme

J : joule

HF : huile fixe



Table de matière

Introduction générale.....	01
----------------------------	----

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Présentation de la plante

I-1-Description de l'espèce.....	03
I-2-Conditions biologiques et édaphiques :	
I-2-1-Culture.....	05
I-3- Usages de la plante :.....	06
I-3-1- Usages alimentaires.....	06
I-3-2- Usages agricoles.....	06
I-3-3- Usages industriels.....	06
I-3-4-Usages thérapeutiques.....	06

Chapitre II : Phytochimie de *Foeniculum vulgare* Mill

II-Etude phytochimique de la plante	
II-1-Eau.....	07
II-2- sels minéraux.....	07
II-3-Les métabolites primaires :	
II-3-1- Glucides.....	07
II-3-2-les protéines.....	08
II-3-3-les lipides.....	08
II-4-les métabolites secondaires	
II-4-1-les composés phénoliques.....	09
-Fonctions biologiques des composés phénoliques	
II-4-1-1-Tanins :.....	11
II-4-1-2-Flavonoïdes.....	12
II-4-1-3- coumarines	14
II-4-1-4-Anthocyanosides.....	15

1-2- Milieux de culture.....	29
1-3-Pouvoir antimicrobien.....	30
1-4Pouvoir antifongique	31

Résultats et Discussion :

Etude phytochimique

1-Détermination de la teneur en eau.....	33
2-Tests phytochimiques.....	34
3-Extractions sélectives.....	35
4-Extraction de l'huile fixe de fenouil.....	36

Pouvoir antimicrobien

1-Bactéries et levures :

1-1-Antibiogramme.....	38
1-2- Pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques.....	39
1-2-1-Aromatogramme.....	40

2-Champignons :

2-1-Pouvoir antimicrobien de l'antifongique.....	41
2-2-Pouvoir antifongique des extraits phénoliques et de l'huile de fenouil.....	42

Conclusion.....	44
-----------------	----

Références bibliographiques.....	45
----------------------------------	----

Annexes



Introduction

Le but de notre travail étant de rechercher les métabolites secondaires de *Foeniculum vulgare Mill* et d'évaluer leur activité antimicrobienne.

Notre travail comprend trois parties :

✓ La partie bibliographique comporte trois chapitres :

-une présentation de l'espèce de *Foeniculum vulgare Mill*

-une description des métabolites primaires et secondaires et quelques activités biologiques de l'espèce

-une étude des huiles végétales (essentiels et fixes) de *Foeniculum vulgare Mill*

✓ La partie expérimentale porte sur :

-L'extraction d'huile fixe et des polyphénols (tanins et flavonoïdes) à partir des graines de *Foeniculum vulgare Mill*

-L'évaluation des activités antimicrobiennes des polyphénols et d'huile des graines de fenouil

✓ Une Troisième partie renferme les résultats et la discussion avec une conclusion.

I-1-Description :

Le fenouil est un membre de la famille d'Apiaceae autrefois connue sous le nom d'Ombellifère (Peterson et al., 1996) comprenant plus de 3000 espèces et environ 125 genres. Les caractères dominants de cette famille dont l'inflorescence des ombelles, la réduction dans la taille de la fleur (Ernst, 1989)

Le fenouil est une plante bisannuelle ou vivace à racine fusiforme, allongée de la grosseur d'un doigt, ronde et blanchâtre.

La tige qui peut atteindre 2 mètres est cylindrique, ronde quelque fois légèrement aplatie, un peu striée, rameuse. Elle porte des feuilles alternes à aspect linéaire, très grandes à pétiole largement embrassant, découpées d'un grand nombre de segments très fin (Rodzko, 1999)

Le fruit est un diakène, c'est un oblong à côtes égales (Wichth et al., 1999)



Figure N°1 : Le fenouil au stade récolte (Arrufat , 2009)

De juillet à septembre, la plante développe de grandes ombelles dans lesquelles murissent les graines de couleur jaune verdâtre dont la longueur varie de 3 à 5mm (Pauze-Shirey ,2002)



Figure N°2 : Les graines de fenouil

(<http://www.aromatiques.com/catalogueepices/fenouil.html>)

Le tableau N°1 : Quelques usages thérapeutiques de *Foeniculum vulgare Mill* :

Partie de la plante	Méthode de préparation	Effets	Références
Racines	décoction	-diurétique -contre les règles douloureuses	(Borel ,1997)
feuilles	Hachées dans l'alimentation	-facilitent la digestion des métaux lourds et gras (haricots, fève, viande)	(Borel ,1997)
	Infusion	-Favorise l'expectoration et apaise la toux	(Pauze-schirey ,2002)
Racines +feuilles	--	-facilitent les fonctions d'élimination rénale, digestives et pour les diarrhées douloureuses	(Bruneton ,1987)
Fruit	---	-augmente la sécrétion lactée -calme les coliques -stimule l'appétit -traite : *La constipation *Dysenterie *Diarrhée *Désordres nerveux	(Garnier et al., 1961) (Leurug et Foster, 1996)
Graines	Infusion	-carminative -contre le rhumatisme -favorise la lactation et –contre : *les gaz intestinaux *l'asthme, *digestion lente, *les reins enflammés, * les migraines	(Borel ,1997)
	Tisane	-contre les flatulences et les spasmes intestinaux	
	compresse	-soulage la conjonctivite et les petites inflammations oculaires	(Pauze-schirey ,2002)
Huiles	infusion	-Troubles digestifs -indiquer en cas de : *ballonnement *nausée *constipation *rétention de l'eau *obésité *œdème *aménorrhée	(Abrassart, 2001)

Chapitre II

Phytochimie de l'espèce

Foeniculum vulgare Mill



Les substances actives des plantes médicinales sont de deux types : métabolites primaires et secondaires.

II-Etude phytochimique de la plante :

II-1-Eau :

Les aliments contiennent des quantités variables d'eau, une jeune plante de fenouil contient de 70 à 80 % d'eau (c'est-à-dire 20 à 30% de matière sèche) (Wathiaux, 1997)

II-2- Sels minéraux et vitamines:

Le fenouil est une mine de minéraux et de vitamines, il est riche en vitamine : A, B, C et en sels minéraux : calcium, phosphore, potassium, soufre, magnésium et fer... (Neyrat ,1997)

II-3-Métabolites primaires :

II-3-1-Glucides :

Le fruit de fenouil contient de l'amidon, de la cellulose ; la racine de fenouil renferme aussi une quantité appréciable de saccharose (Garnier *et al.* ,1961)

Selon Fachmann et Kraut (1995); le fenouil contient 23% de sucre ; et 27.5 % de cellulose pure.

II-3-2-Protéines :

Des échantillons, provenant de l'ouest algérien, ont montré que les teneurs des principaux composés issus du métabolisme primaire et pour chacune des parties de la plante (graines, tiges et racines) sont intéressantes pour les protéines (17,5 %) (Lazouni *et al.*, 2006)

Les résultats des teneurs en protéines obtenus sur les différents types et divers organes de la plante sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau N°2 : Teneurs moyennes en protéines du Fenouil exprimées en pourcentage par rapport à la matière sèche :

Référence	(Garnier ,1961)		(Fachmann et Kraut, 1995)	(Wichth <i>et al.</i> , 1999)	
	Tourteau des fruits épuisés	Graine de fenouil	Fenouil	Fenouil amer	Fenouil doux
Protéines (% MS)	14-22	14-22	22.5	20	30

II-3-3-Lipides :

Des échantillons, provenant de l'ouest algérien, ont montré que les teneurs en lipides pour chacune des parties de la plante (graines, tiges et racines) sont intéressantes pour les lipides (12 %) (**Lazouni et al., 2006**)

Les résultats des teneurs en lipides obtenus sur les différents types et divers organes de la plante sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau N°3 : Teneurs moyennes en lipides du Fenouil exprimées en pourcentage par rapport à la matière sèche :

Référence	(Karasse 1999)	(Garnier ,1961)	(Fachmann et Kraut, 1995)	(Wichth et al., 1999)	
Partie et/ou variété de fenouil	Fenouil	Graine de fenouil	Fenouil	Fenouil amer	Fenouil doux
Lipides (% MS)	16	12-18	2.5	20	20

Le tableau suivant résume quelques Valeurs des teneurs en composés appartenant au métabolisme primaire du fenouil :

Tableau N°4: la composition moyenne pour 100g de la plante fraîche de fenouil (**Fachmann et Kraut, 1995**)

Composants	Teneurs
Glucides (g)	2.8
Protéines -	2.7
Lipides -	0.3
Fibres alimentaires -	3.3
Eau -	88
Minéraux (mg)	
*potassium	430.000
*phosphore	51.000
*calcium	100.000
*magnésium	40.000
*sodium	86.000
*fer	2.700
*cuivre	0.060
*zinc	0.250
Vitamines (mg)	
*vitamine C	52.000
*vitamine A	3.700
*vitamine B1	0.230
*vitamine B2	0.110
*vitamine B3	0.300
*vitamine B5	0.250
*vitamine B6	0.100
*vitamine B9	0.100
*vitamine E	6.000
K calories	25
K joules	104

II-4-Métabolites secondaires :

II-4-1-Composés phénoliques :

Les polyphénols constituent un des groupe le plus nombreux et largement distribué des substances dans le royaume des végétaux, avec plus de 8000 structures phénoliques communes ces molécules se trouvent dans la plante depuis les racines jusqu'aux fruits (**Lugasi et al., 2003**)

L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction : éther, ester, hétéroside (**Bruneton ,1999**)

✓ Fonctions biologiques des composés phénoliques :

Les composés phénoliques montrent les différentes activités biologiques : les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales, antiallergiques, antiulcéreuses (**Ahn et al., 2008**)

A cause de ces divers rôles biologiques et en raison de leur variation structurales, il a été difficile de développer des modèles qui permettent de prévoir exactement leurs effets et le développement de la relation Structure/ Activités.

Les phénols seraient associés à de nombreux processus physiologiques : croissance cellulaire, différenciation, organogénèse, floraison et tubérisation (**Alibert et al., 1977**)

Ces substances sont doués de nombreuses propriétés biologiques et pharmacologiques expliquant leurs bienfaits sur la santé de l'homme, certains d'entre elles sont actives par leur pouvoir antioxydant, d'autres participent à la détoxification enzymatique des substances cancérigènes présentes dans l'organisme (**Derbel et Ghidira, 2005**)

- Les composés phénoliques regroupent plusieurs classes représentées dans la figure 5

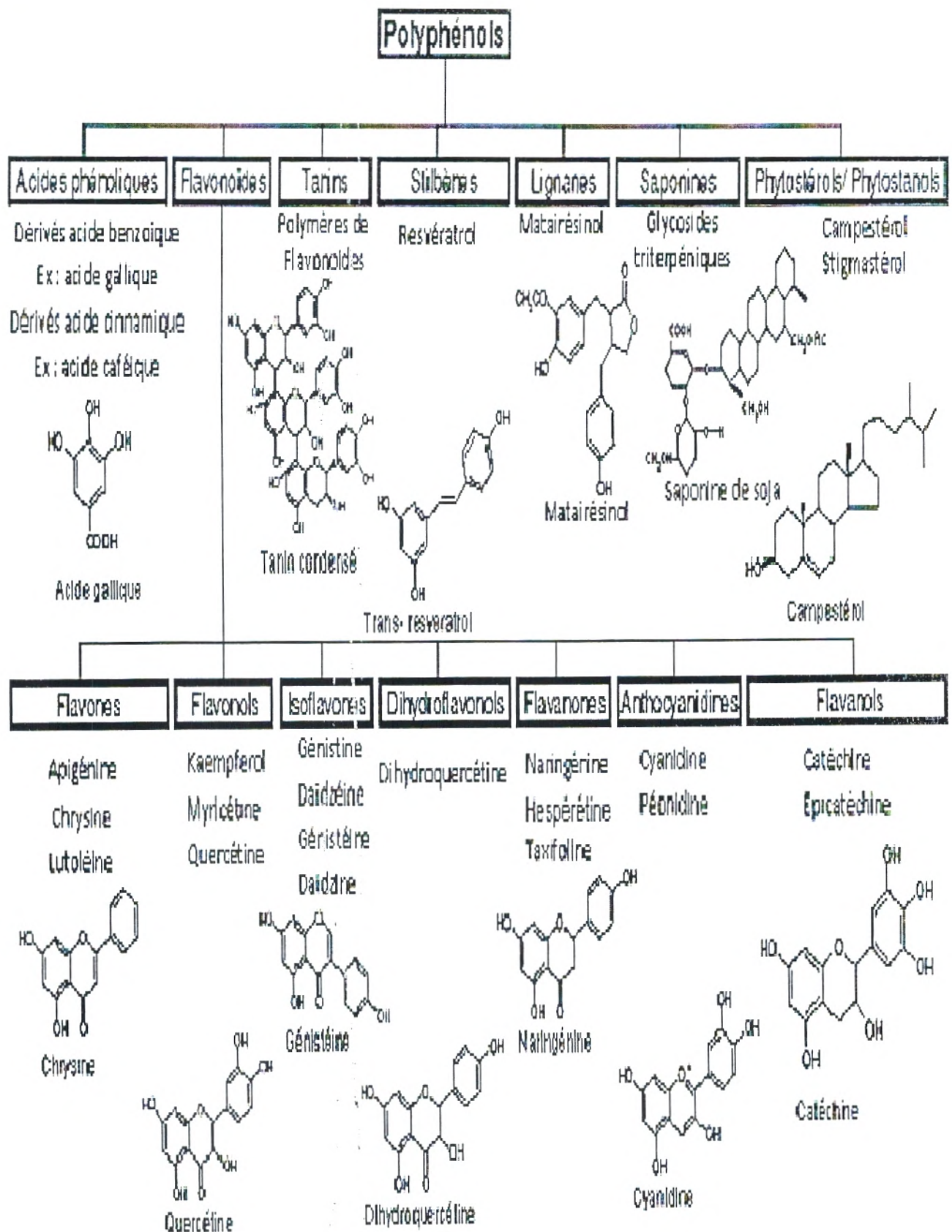


Figure N°5 : Les différentes classes des composés phénoliques
(Macheix et al., 2005)

II-4-1-1-Tanins :

Les tanins sont des poly phénols polaires d'origine végétale existent presque dans chaque partie de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racine. Leur masse moléculaire varie de 500 à 3000 Da (Berthod *et al.*, 1999),

On distingue habituellement chez les végétaux supérieurs deux groupes de tanins:

-*Tanins hydrolysables* : sont oligo ou des poly ester d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol, le sucre est généralement le glucose. L'acide phénol est soit de l'acide gallique dans le cas des tanins galliques, soit l'acide hexahydroxydephénique HDDP et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques.

-*Tanins condensés ou proanthocyanidines* : Ils ne possèdent pas de sucre dans leurs molécules et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes (Bruneton, 1999)

✓ Source alimentaire :

Les tanins sont présents dans une variété de nourriture qui comprend les céréales (orge, haricots secs, pois...) et les fruits (pommes, bananes, dates, pêches...) (Chung *et al.*, 1998)

✓ Propriétés :

*les tanins peuvent chimiquement contribuer à la défense ainsi que de minimiser les dommages aux plantes causé par les insectes et les mammifères herbivores (Bi *et al.*, 1997)

*les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures (Bruneton, 1999)

*les tanins sont utilisés pour leur action astringente comme anti-diarrhéique, ils ont un effet hémostatique, sont des protecteurs veineux dans le traitement des varices et hémorroïdes. Ces substances renferment des propriétés antivirales, hypoglycémiantes et antimicrobiennes (contre *pseudomonas aeroginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Streptococcus lactis*, *Klebsiella pneumonia*, *Eschirichia coli*, *Yersinia enterolitica*, *Aspergillus niger*, *Penicillium*, *Saccharomyces cerevisiae*...) (Paris *et al.*, 1981)

*les décoctions et les autres préparations à base de drogues riches en tanins sont employées le plus souvent extérieurement contre les inflammations de la cavité buccale, le catarrhe, la bronchite, les hémorragies locales, les plaies, les inflammations dermiques, les hémorroïdes et la transpiration excessive (Lamnouar, 2002)

II-4-1-2-Les flavonoïdes :

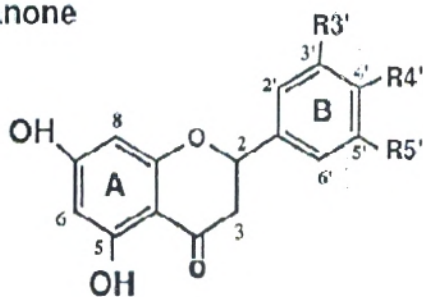
Les flavonoïdes sont des pigments quasiment d'origine végétale sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles (**Bruneton, 1999**)

Plus de 6400 structures des flavonoïdes ont été établie, présents dans les aliments de nature végétale (céréales, fruits, légumes...) et boissons (vin, thé, ...) (**Harbone et Williams, 2000**)

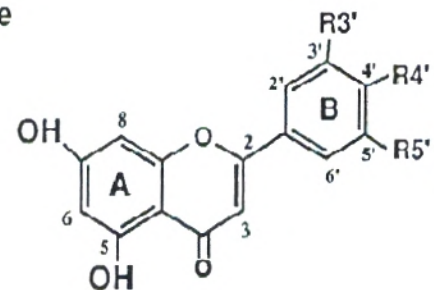
--les feuilles et les fruits du fenouil renferment certaines flavonoïdes dont : les quercetin-3-O-glucuronides, quercetin-3- arabinoside, Kaempferol-3- arabinoside (**Kunzemann et al., 1977**)

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs familles de composés (Figure 6).

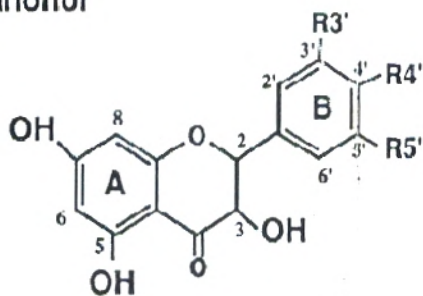
flavanone



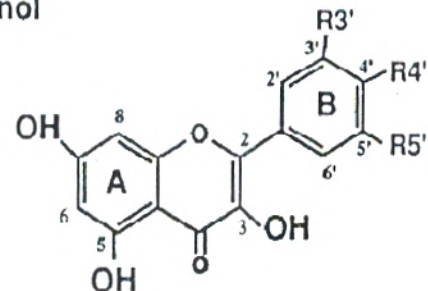
flavone



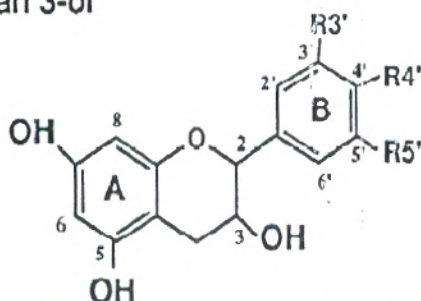
flavanonol



flavonol



flavan 3-ol



isoflavone

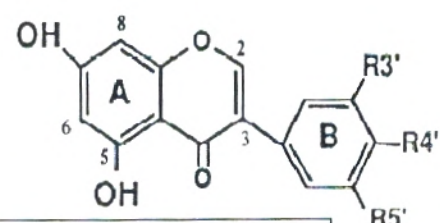


Figure N°06: Structures des différentes classes de flavonoïdes
(Gamet-Payraastre *et al.*, 1999).

La prise moyenne des flavonoïdes par l'homme s'étend de 25g/ jour à 1g/ jour (Wang et Mazza, 2002), Le tableau 5 regroupe la distribution nutritionnelle de certains flavonoïdes.

Tableau N°5 : sources alimentaires des flavonoïdes (Marfak, 2003)

<i>Flavonoïdes</i>	<i>Aliments</i>
Flavanones Naringénine	Fruits de genre Citrus
Flavones Chrysin Apigénine Lutéoline	Peau des fruits Thym-romarin Persil-céleri
Flavonols Kaempférol Quercétine Myricétine	brocoli-thé noir Oignon-pomme-tomate Vin rouge
Flavanols Epicatechine Catéchine Epigallocatechine	Thé vert- thé noir Thé vert Vin rouge
Anthocyananidols Cyalidol Malvidol Apigénidol	Cassis Raisins-fraises Fraises-framboises



✓ **Propriétés :**

*les flavonoïdes jouent un rôle important dans la plante telle que la défense et la signalisation des composés pour la reproduction, la pathogenèse et symbiose (Maxwell et Philips, 1990)

*les flavonoïdes sont proposés en ophtalmologie en cas de troubles oculaires au niveau de la rétine, participant au processus oxydant et désoxydant, possédant une activité hypoglycémiant (Bruneton, 1999)

*les flavonoïdes sont capables de moduler l'activité de certains enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, possédant une multitude d'activités biologiques notamment des propriétés antivirales, anti-tumorales, anti-œdémateuses, anti-inflammatoires,

antiallergiques, antiulcéreuses, anti-hépatotoxiques, vasculo-protectrices et antibactériennes (contre *Staphylococcus aureus*, *Dianthus caryophyllus*...) (Lamnouar, 2002)

*les flavonoïdes sont des composés qui possèdent des fortes propriétés anti-oxydantes, les données de la littérature montrent une mise en évidence de certaines relations entre la structure flavonoïque et l'activité anti-oxydante; parmi les agents qui augmente cette activité est le nombre des groupements hydroxyle sur le noyau B, quand le nombre augmente l'activité augmente (Rice Evans et al., 1995)

II-4-1-3-coumarines :

Se sont des substances odorantes présentent dans de nombreuses plantes aux actions variables (Bruneton, 1999). L'action commune des coumarines de différente origine est celle contre les différents types de troubles gastriques, antivirale, antimicrobienne (Resch et al., 1998).

La coumarine connue pour ses propriétés anti-œdémateuses, a fait l'objet d'études cliniques chez les patients atteints de cancers avancés car elle est rapidement métabolisée au niveau du foie (Fujioka et al., 1999). Il n'est pas exclu que les propriétés anti-inflammatoires et analgésiques attribués au frêne soient dues aux coumarines (Garcia-Aguez et al., 2000)

--le fenouil amer contient des traces de coumarines (scopoletol...) et du furanocoumarine (bergaptene, psoralène) (Wichth et al., 1999)

II-4-1-4- Anthocyanosides :

Les anthocyanes sont des pigments qui colorant les plantes en bleu, rouge, mauve ou orange de la plus part des fleurs et des fruits ; et dont les couleurs vives attirent les insectes et les oiseaux, jouent un rôle majeur dans la pollinisation et la dispersion des graines (Brouillard et al., 1997)

II-4-2-Les Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont une sous famille de composés azotés, existant sous forme de sels (citrate, tartrates, benzoates..) ou sous forme d'une combinaison avec les tanins (Bruneton, 1999)

Actuellement, la structure chimique d'environ 16000 alcaloïdes est connue. Environ 20% des espèces de plantes produisent des alcaloïdes (Memelink et al., 2001)

✓ Propriétés :

Comme beaucoup d'autres métabolites secondaires, on ne sait pratiquement rien du rôle des alcaloïdes dans les végétaux. Les plantes les utilisent pour la plupart d'entre eux dans leur système de défense contre les herbivores et les pathogènes ; au large sens, les alcaloïdes sont des substances particulièrement intéressantes pour leurs activités surtout pharmacologiques qu'exercent dans des

domaines assez variés ; la médecine par exemple les emploie le plus souvent à l'état pur et ils sont utilisés comme dépresseurs (morphine), stimulants (caféine), comme substances paralysante (curare) ou comme anticancéreux (vinblastine et vincristine) (Wink, 1999)

--D'après Garnier et al. (1961) les fruits de fenouil doux possèdent des substances azotées.

II-4-3-Les saponosides :

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquent chez les végétaux, ils sont caractérisé par leurs propriétés tensioactives, certains sont utilisés en thérapeutique comme : anti-inflammatoire, stimulant diurétique, anti-tumoral, anti-œdémateuse, antitussive et/ou expectorante (Hostettmann et al., 1995)

✓ Propriétés :

Les saponines irritent les muqueuses, causent un relâchement intestinal, augmentent les sécrétions muqueuses bronchiales. Ils sont employés comme diurétiques et désinfectants des voies (Lamnouar, 2002)

Chapitre III

Les huiles végétales



interactions végétales/animales (protection contre les prédateurs, insectes, champignons et attraction des pollinisateurs). Elles pourraient constituer des supports à une « communication » et ce, d'autant mieux que leur variété structurale autorise le transfert de « messages biologiques » sélectifs. Une huile essentielle est étroitement liée à une réponse thérapeutique précise (**Bruneton, 1987**)

III-1-5-Facteurs influençant la production et la composition chimique des huiles essentielles :

La composition chimique et le rendement des huiles essentielles varient suivant diverses conditions : l'environnement, le génotype, origine géographique, la période de la récolte, le séchage, lieu de séchage, la température et le lieu de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (**Svoboda et al., 1999**)

III-2-Les huiles végétales fixes :

III-2-1-Définition :

Les huiles végétales fixes ont pour caractère d'être inodores ou extrêmement peu odorantes, d'être presque insipides et absolument dans l'eau, de supporter une température de 200 à 300 degrés sans se volatiliser d'une manière sensible et de décomposer en partie seulement à une température élevée en une huile volatile en acide acétique, en gaz oxyde de carbone et hydrogène carburé et en charbon. Encore ont été nommées huiles douces à cause de leur peu de saveur (**Frédéric, 1814**)

Ces huiles sont obtenues ordinairement par expression des graines siégeant le péricarpe des semences dicotylédones.

Les huiles fixes sont subdivisées en *huiles fixes grasses* (huiles d'olives, amandes douce) et en *huiles fixes siccatives* (lin). Celles-ci exposées à l'air en couches minces, s'y durcissent et prennent l'aspect d'un vernis.

III-2-2-Traitement des huiles végétales :

III-2-2-1- Traitement traditionnel des huiles végétales :

❖ Les huiles médicinales élaborées à chaud :

Bien qu'elles se conservent pendant un ans, les huiles médicinales sont plus efficace lorsqu'elles sont fraîches. Quand l'huile est tiède, la filtrer à travers un étamine.

- la plante hachée est mélangée à l'huile dans un saladier chauffé au bain marie, Couvrir et laisser frémir pendant 2 à 3h.-laisser refroidir hors du feu, puis verser dans un pressoir à vin, tapissé d'une étamine. Recueillir l'huile filtré dans le bocal, en pressant bien pour extraire tout le liquide de la

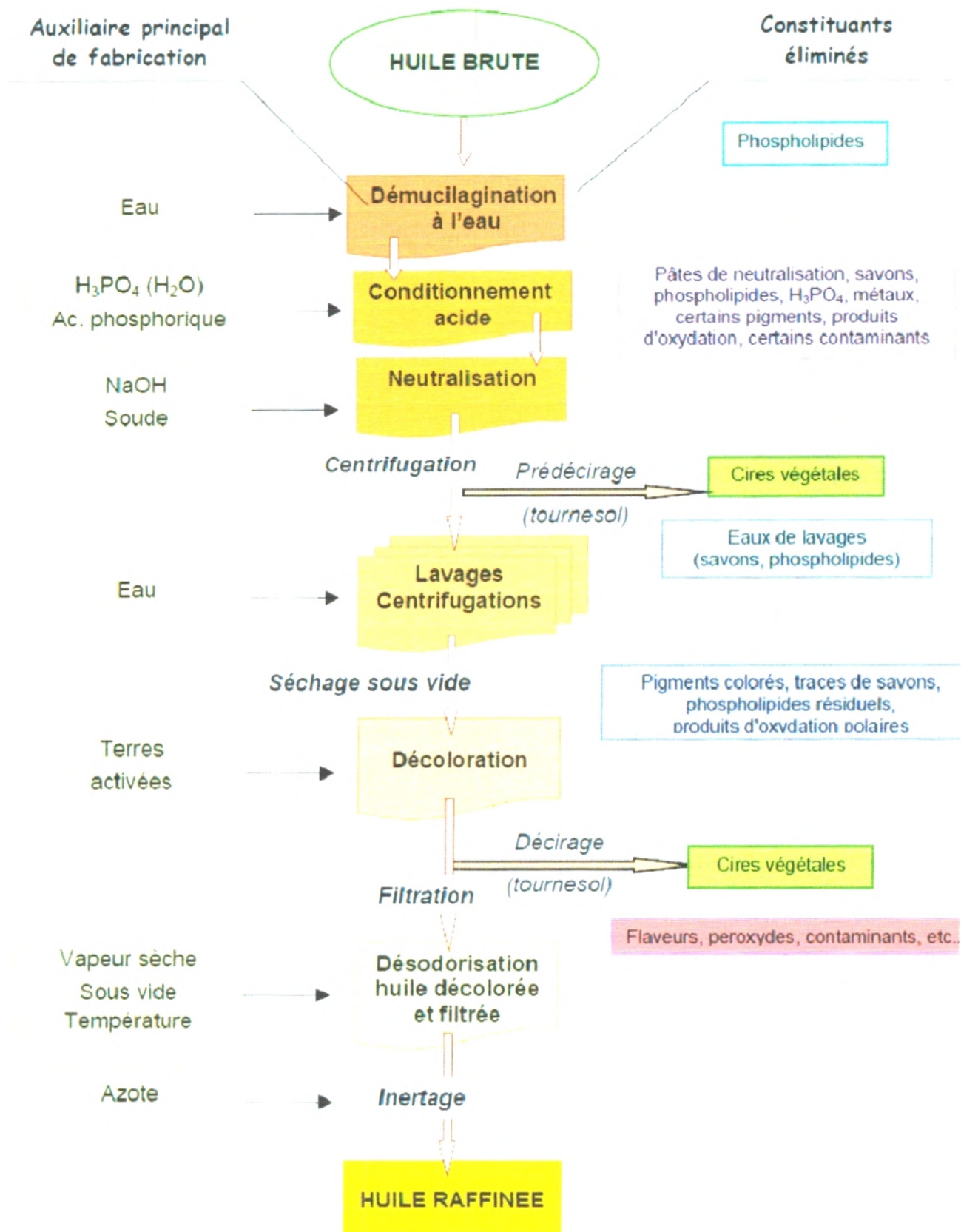


Figure N°7 : LES ETAPES DU RAFFINAGE CHIMIQUE DES HUILES VEGETALES BRUTES

(doc@iterg.com)

*l'indice d'iode exprime le degré d'insaturation d'un corps gras. Il peut se déterminer par dosage des doubles liaisons par du diiode, et correspond alors à la masse de diiode, exprimé en g, fixée pour 100g de corps gras. Les 3 catégories d'huile et leur indice d'iode respectif sont présentés dans le tableau 9.

Tableau N°9 : classement des huiles végétales en fonction de leur indice d'iode selon Martin, 1998

Type d'huile	Indice d'iode
Siccative	≥150
Semi-siccative	110 à 150
Non-siccative	0 à 110

Toutefois, l'indice d'iode doit être complété par la position des doubles liaisons et leur conjugaison afin de caractériser correctement la siccativité d'une huile (**Martin, 1998**)

III-2-5-Utilisation des huiles fixes :

Seul un tiers de la production mondiale des corps gras est destiné à un usage industriel. Les deux tiers de la production sont en effet destinés à l'alimentation. Parmi les multiples usages industriels des corps gras, on peut citer la fabrication des acides gras, des savons (L'huile de fenouil sert fréquemment pour parfumer les savons) etc. Les triglycérides sont également à l'origine de nombreux produits chimiques qui peuvent entrer dans la composition d'une multitude de produits : lubrifiants, produits cosmétiques, produits pharmaceutiques, peintures (**Ornella, 1999**)

Les huiles médicinales sont appliqués sur la peau, pour soulager les douleurs rhumatismes et arthritique, améliorer la circulation sanguine et détendre les muscles, ils sont employées aussi comme adoucissantes, pour apaiser les douleurs, calmer les irritations, diminuer la sécheresse de la toux, détruire les taches des acnés (**Paul, 2001**)

-Huile de fenouil :

L'huile de fenouil est extraite de la semence de *Anethum foniculum* (ancienne appellation de *Foeniculum vulgare Mill*), elle est incolore ou jaunâtre, son odeur et sa saveur sont analogue à celles du fenouil, sa densité est de 0.997 ; elle se prend au dessous de 10° en une masse cristalline (**Jons jakob, 1861**)

Selon **Abrassart, 2001** l'infusion de l'huile les graines de fenouil est utiliser en thérapeutiques en cas de : troubles digestifs, ballonnement, nausée, constipation, rétention de l'eau, œdème, obésité, aménorrhée...

1-Provenance du matériel végétal :

Notre choix est porté sur la plante *Foeniculum vulgare Mill* et plus spécifiquement sur ses graines commerciales, ces dernières ont été par la suite conservées à froid.

2-Détermination de la teneur en eau :

❖ Principe :

On place l'échantillon à analyser dans une étuve maintenue à $103^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des vases de tare, placés dans un dessiccateur (Audigie *et al.*, 1980)

❖ Mode opératoire :

- Introduire dans chaque vase 2g de l'échantillon frais : c'est le poids P_1
- Les placer dans une étuve réglée à 105°C pendant 3h
- Peser l'ensemble et répéter la même opération mais avec un temps réduit (1h seulement)

La différence entre les deux pesées doit être inférieure à 2mg sinon l'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

❖ Expression des résultats :

La teneur en eau (%) du matériel végétal est donnée par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau (\%)} = (P_1 - P_2) / M \times 100$$

P_1 : masse en g de la prise d'essai avant séchage

P_2 : masse en g de la prise d'essai après séchage

M : masse du matériel végétale.

A partir de la teneur en eau on peut déterminer le taux de la matière sèche qui est donnée par la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = 100 - \text{teneur en eau (\%)}$$

3-Détermination de la teneur en matière grasse (ISO 659,1988)

L'extraction par solvant organique spécifique pour la détermination du taux de la matière grasse (n-haxane) est réalisée dans un appareil de type Soxhlet. Cette technique assure une extraction à chaud des matières grasses contenues dans un échantillon végétal solide placé dans une cartouche de

cellulose et imbibé continuellement par les vapeurs d'un solvant choisi. En fonction de la polarité des principes actifs lipidiques à extraire. Elle a été effectuée selon la méthode ISO 659-1988.

Environ 10g de l'échantillon broyé de la granulométrie inférieur à 0.5 mm sont pesés dans le tube en cellulose fermé par du coton cardé, et introduit dans un Soxhlet. L'extraction est réalisée par du n-hexane (300ml) porté à reflux pendant 8h (répartie en 4h+2h+2h) le solvant est ensuite éliminé sous pression réduite à 45C°. Le taux de la matière grasse est calculé par deux méthodes.

Méthode directe :

$$MG(\%) = \frac{P_2 - P_1}{M}$$

P1 : poids du ballon vide

P2 : poids du ballon après l'évaporation

M : masse de la prise d'essai

MG : taux de matière grasse

Méthode indirecte :

$$MG(\%) = \frac{P_1 - P_2}{M}$$

P1 : poids du cartouche avant l'extraction

P2 : poids du cartouche après l'extraction

M : masse de la prise d'essai

MG : taux de matière grasse

4-Tests phytochimiques (Trease et Evans, 1987) :

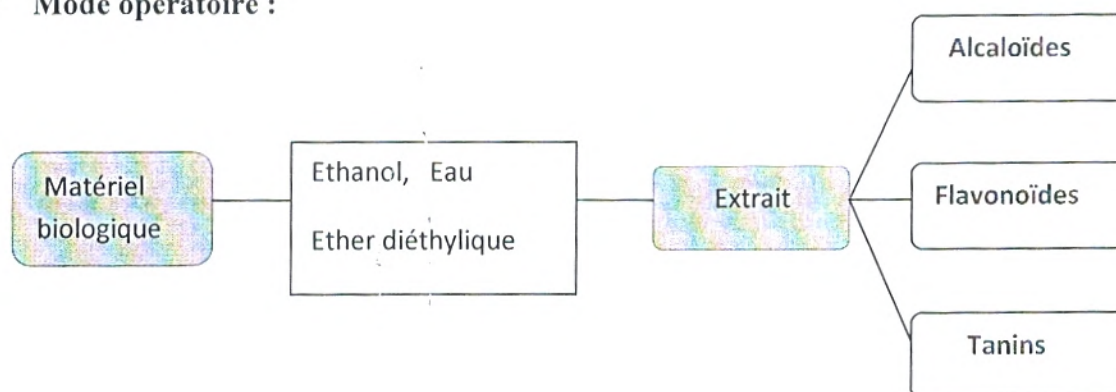
L'examen phytochimique permet de détecter la présence ou l'absence des constituants chimiques essentiellement les composés phénoliques, alcaloïdes....

▪ Principe :

La mise en évidence s'effectue par les tests phytochimiques réalisés généralement sur des extraits déjà préparés (par épuisement à chaud ou par macération à froid) ou directement sur l'échantillon à analyser.

- ✓ Les essais de solubilité des constituants de la plante vis-à-vis des solvants organiques : l'eau, le méthanol, l'éthanol, le chloroforme et l'éther diéthylique
- ✓ Réaction de coloration et de précipitation
- ✓ Examen sous la lampe ultraviolette

▪ Mode opératoire :



❖ Produit végétal épuisé par l'éther diéthylique :

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50g du matériel biologique en présence de 300ml d'éther diéthylique. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et surmettre au test suivant :

○ Alcaloïdes

Evaporer 10ml de l'extrait étherique ensuite dissoudre le résidu obtenu dans 1.5 ml de HCL à 2%. Ajouter à cette solution 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes.

❖ Produit végétal épuisé par l'eau chaude:

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 5g du matériel végétal broyé en ajoutant 300 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à reflux pendant 1h, filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux au test suivant :

○ Tanins

Traiter 1ml de la solution aqueuse avec 1ml d'eau distillée et 1 à 2 gouttes de FeCl_3 0 2%. L'apparition d'une coloration vert foncé ou bleu vert indique la présence des tanins.

❖ **Produit végétal épuisé par l'éthanol:**

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50g du matériel végétal broyé en ajoutant 300ml d'éthanol. L'ensemble est porté à reflux pendant 1h ensuite filtré, l'extrait éthanolique est soumis aux tests suivants :

○ **Alcaloïdes**

Evaporer 20ml de la solution éthanolique à sec. Ajouter 5 ml HCL 2N au résidu et chauffer au bain marie. Filtrer le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales. Traiter la première partie avec quelques gouttes de réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wanger.

Le test n'est considéré positif que lorsqu'il y'a apparition d'une turbidité ou d'une précipitation.

(+) : si le réactif produit une légère opacité

(++) : si le réactif produit une légère turbidité et non une floculation

(+++): si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd

○ **Flavonoïdes**

Traiter 5ml de l'extrait alcoolique avec quelques gouttes de HCL concentré et 0.5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3min

○ **Tanins**

Prendre 1ml de la solution alcoolique, ajouter 2ml d'eau distillée et 2 à 3 gouttes de FeCl₃ diluée. Un positif est révélé par l'apparition d'une couleur bleu noir, vert ou bleu et un précipité, selon que les tanins sont catéchiques, gallique ou ellagique.

5-Extraction sélectives:

5-1-Extraction des tanins (Bruneton, 1999) :

10g de matériel végétal broyé en présence de 180 ml d'eau distillée et 100ml d'acétone, l'ensemble est porté à une macération à froid (4°C) pendant 4 jours. Filtrer et extraire la solution deux fois avec 50 ml de dichloromethane afin d'éliminer les pigments et les lipides. Décanter e extraire la phase aqueuse quatre fois avec 50 ml d'acétate d'éthyle. Sécher la phase organique avec MgSO₄ ensuite évaporer le solvant à sec.

➤ **Expression des résultats :**

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$Rt = (P_2 - P_1) / m \times 100$$



Rt : rendement des MS tanins en %

P1 : Poids de ballons vide avant l'extraction

P2 : Poids de ballon plus les tanins après l'extraction

M : Masse de l'échantillon en g

5-2-Extraction des flavonoïdes (Dauguet et Foucher, 1982):

20g de matériel végétal dans 200ml de méthanol bouillant et 10 g de CaCO₃. L'ébullition est maintenue sous réfrigérant à reflux pendant 1h. Après filtration le dépôt est traité de nouveau pendant 1h à ébullition dans la même quantité d'alcool.

Les deux solutions alcooliques sont réunies, elles sont évaporées et le résidu sirupeux est repris par 100ml d'eau distillée bouillante.

La solution aqueuse est filtrée à chaud et le filtrat épuisé successivement par l'éther di éthylique, l'acétate d'éthyle et le n-butanol tous les composés flavonoïques se trouvent dans l'extrait d'acétate d'éthyle.

➤ Expression des résultats :

Le rendement est représenté par la formule suivante :

$$Rt = (P_2 - P_1) / m \times 100$$

Rt : rendement des MS flavonoïdes en %

P1 : Poids de ballons vide avant l'extraction

P2 : Poids de ballon plus les flavonoïdes après l'extraction

M : Masse de l'échantillon en g

5-3 Extraction des phénols totaux :(Singleton et al.,1999) :

2 g de matériel végétal broyé en présence de l'éthanol/ eau, l'ensemble est porté à une macération a froid (4°C) pendant 24h .Après filtration, la solution obtenue est éliminée par distillation sous pression réduite et le résidu sirupeux est repris par 3ml de méthanol.

6-L'activité antimicrobienne des composés phénoliques :

6-1-Originine des germes :

Les souches pathogènes utilisées sont des bactéries, des moisissures et des levures.

Tableau N°10: Origine des souches utilisées :

Les souches		Le code	La source	
Champignons	Filamenteux (moisissures)	<i>Aspergillus flavus</i>	Laboratoire de Microbiologie (Tlemcen) LAPRONA	
		<i>Aspergillus niger</i>		
		<i>Aspergillus fumigatus</i>		
	Non filamenteux (Levure)	ATCC10231	Collection de laboratoire LA MAABE	
Bactéries	Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>		ATCC25922
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
		<i>Listeria monocytogens</i>	ATCC19115	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	Laboratoire de Microbiologie (Tlemcen) LAPRONA
	Gram positif	<i>Enterobacter fecalis</i>	ATCC29212	Hôpital de SBA service infectieux
		<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC25923	Laboratoire de Microbiologie (Tlemcen) LAMAABE
		<i>Bacillus cereus</i>	ATCC11178	

Conservation :

Les souches bactériennes et fongiques pures ont été conservées à 4°C dans des tubes contenant des milieux de cultures inclinées : gélose nutritive pour les bactéries, SDA pour la levure, et PDA acidifié pour les moisissures.

6-2 les milieux de culture :

Toutes les souches ont été purifiées par repiquage successif. Pour la réalisation des tests :

-Milieu Sabouraud Dextrose Agar (SDA), bouillon nutritif pour la levure ;

-Milieu Muller-Hinton (MH) gélose, bouillon cœur cerveau (BHIB), gélose et bouillon nutritif pour les bactéries.

-Milieu PDA (Potatos Dextrose Agar) pour les moisissures.



6-3 Pouvoir antimicrobien :

6-3-1-Préparation de l'inoculum des souches étudiées :

Une suspension bactérienne en solution stérile à 0.9% de NaCl a été préparée à partir d'une culture de 24h sur bouillon nutritif incubé à 37C°. Cette suspension est équivalente au 0.5 de standard de Mc Farland (10^8 UFC/ml) dont la densité optique est fixée à 625nm entre 0.08 et 0.1 (**Chabbert et al.,2002**)

6-3-2-Sensibilité des souches :

Pour les bactéries, on a appliqué la méthode des disques ou antibiogramme standard (**Joffin et Leyral, 2001**), ainsi que dans le cas de la levure on utilise la même technique.

Le choix des antibiotiques et l'antifongique a été établi en fonction de leur disponibilité. L'antifongique utilisé pour la levure est l'Amphotéricine B avec une charge de disque de 10%.

❖ Antibiogramme :

Dès l'application des disques d'antibiotiques à la surface d'un milieu gélosé, préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier, les antibiotiques diffusent de manière uniforme. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une absence de culture (**Guerin-faublee et Carret, 1999**)

Pour la préparation des inoculum, on a utilisé la même méthode citée antérieurement. après ensemencement de la gélose MH par une culture bactérienne de 10^6 cellules/ml, nous avons placé les différents disques antibiotiques, puis les boîtes sont laissées durant 20min à la température ambiante pour permettre une bonne diffusion de l'antibiotique. Elles sont ensuite incubées à 37C° pendant 18 à 24h. La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour du disque, comparé avec des références.

❖ Les antibiotiques :

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes (ATB naturels) ou par synthèse chimique de molécules dérivant de composés naturels. Ils empêchent le développement d'autres micro-organismes et peuvent dans certains cas les détruire. Les antibiotiques utilisés dans cette étude sont représentés dans le tableau 11 :

Tableau N°11: les antibiotiques utilisés :

Antibiotiques	Symbole	Charge des disques
Amoxicilline	AMC	30 µg
Ceftazidine	Caz	30 µg
Erythromycine	E	15 µg
Chloramphénicol	C	30µg
Acide pipemidique	PI	20 µg

6-3-3-pouvoir antimicrobien de l'huile fixe et les extraits phénoliques :

Nous avons testé l'action de l'huile fixe et nos extraits par une méthode rapide, celle de diffusion sur gélose

Aromatogramme :

La méthode de diffusion sur gélose est utilisée pour le dépistage (screening) des activités antimicrobiennes des extraits étudiés. 100µl d'une suspension de micro-organismes (préparation d'inoculum citée précédemment) répartie sur la surface de gélose MH dans des boites de pétries. Ensuite de papier filtre (6mm de diamètre) préalablement imbibés de **10-20-30 µl** de l'extrait sont déposés à la surface déjà ensemencée.

Après avoir été conservées à 4C° pendant 2h, les boites sont incubées à 37C° pendant 24h. l'essai est répété deux fois et les diamètres des zones d'inhibition (IZ) sont alors mesurés en millimètre

Un disque préparé avec seulement le volume correspondant de méthanol est utilisé comme contrôle négatif. Pour les résultats, les échantillons considérés actifs ce sont ceux qui ont une zone d'inhibition supérieure à 6mm (**Vardar-Unlu et al., 2003**)

7-pouvoir antifongiques des moisissures :

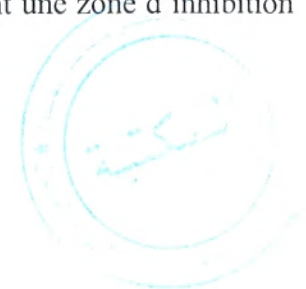
7-1-les moisissures :

Elles proviennent d'une culture de 2 à 7 jours en boites de pétri contenant du milieu PDA

7

-2-Sensibilité des moisissures :

On teste la sensibilité des moisissures, par la méthode de dilution effectuée en milieu solide (**Burnichon et al., 2003**)



❖ Antifongigramme :

L'antifongigramme est une technique qui permet de déterminer la sensibilité des champignons vis-à-vis des antifongiques.

On dépose un disque de mycélium au centre en surface du milieu PDA solide, additionné au préalable d'une concentration connue d'Amphotéricine B. L'incubation se fait à la température de 25C°. Ce test a été réalisé sur les différentes moisissures étudiées.

7-3-pouvoir antifongique des extraits phénoliques :

Afin de tester le pouvoir antifongique de nos extraits, nous avons procédé à la méthode de contact direct, décrite par **Fandohan, 2004**

Les extraits de tanins, flavonoïdes, alcaloïdes et phénols totaux ont été testés comme suite :

-Un volume de 100µl est additionné à 20ml du milieu PDA en surfusion dans un tube à essai.

-après agitation des tubes, le milieu a été coulé dans des boîtes de pétri

-l'inoculation a été faite par le dépôt au centre de la boîte d'un disque mycélien d'environ 6mm de diamètre d'une pré-culture de 3 à 5 jours

-une boîte de pétri contenant 20ml du milieu PDA sans extrait, inoculée d'un disque du mycélium a servi comme témoin.

Après inoculation à 25C° pendant 3 à 5 jours, on a calculé l'indice antifongique ou le pourcentage d'inhibition, déterminé par la formule donnée par **Wang et al., 2005** :

$$\text{Indice antifongique} = ((Db-Da)/Db) \times 100$$

Da : diamètre de la zone de croissance de l'essai

Db : diamètre de la zone de croissance du témoin.

*Résultats
et*

Discussion



2-Tests phytochimiques :

L'apparition d'une coloration, précipitation ou encore d'une floculation par l'intermédiaire de certains réactifs spécifiques affirme la présence des différentes familles de composés chimiques. Les résultats des tests phytochimiques sur notre échantillon sont présentés dans le tableau suivant.

(+++): Test fortement positif

(++): Test positif

(-): test négatif

ND : non déterminé

Tableau N°12: Tests phytochimiques sur graine de *Foeniculum vulgare mill*

	Eau chaude	Ether diéthylique	éthanol
Tanins	++	ND	++
Flavonoïdes	ND	ND	+++
Alcaloïdes	ND	-	-

On remarque qu'il y a une forte présence (+++) des flavonoïdes dans la graine de fenouil au contraire des alcaloïdes qui sont révélés absent dans les 3 extraits. Ces résultats conviennent parfaitement avec ceux de **Lazouni et al., 2006**

3-Extraction sélective :

Les tests phytochimiques sur *Foeniculum vulgare mill* nous ont permis de noter la présence de quelques familles de composés phénoliques tels que les flavonoïdes, et tanins, ceci nous a incités à calculer leur rendement massique par une extraction sélective. Les résultats obtenus par l'extraction de ces 3 familles par rapport à la matière sèche sont représentés dans les figures suivantes :

Toutes les plantes de la famille *Ombellifères* étudiées par (**Wojdylo et al., 2007**) présentent une teneur très basse en polyphénols. Ceci est en accord avec nos résultats présentés.

Nos résultats concernant les polyphénols et l'huile fixe des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare mill*) ont été comparés avec d'autres travaux réalisés sur les graines surtout d'arbres de cumin *Cuminum cyminum* (Athamena, 2008) qui appartient à la même famille que le fenouil et cumin noir *Nigella sativa* (Mezitti, 2008) qui possède quelques propriétés similaires à celles de notre échantillon. Tous les essais ont été répétés 2 fois.

1-Teneur en eau :

Lorsqu'un échantillon d'une plante est placé dans une étuve à 105°C pendant 24h, toute eau s'évapore et le résidu sec s'appelle matière sèche.

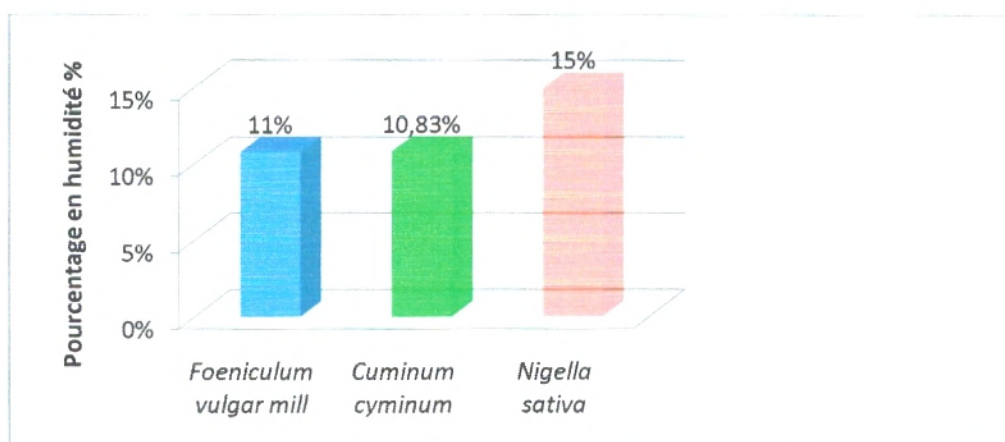


Figure N°8: teneur en eau de *Foeniculum vulgare mill* ; *Cuminum cyminum* ; *Nigella sativa*

La teneur en eau de *Foeniculum vulgare mill* est de 10.88%, cette valeur est similaire à celle de *Cuminum cyminum* 10.83% cela peut être expliqué par l'appartenance des deux plantes à la même famille des Ombellifère, tandis que *Nigella sativa* contient un peu plus d'eau 15%.

Les variations rencontrées dans la teneur en eau de ces échantillons peuvent être dues à certains facteurs écologiques, l'âge de la plante, la période du cycle végétatif, ou même à des facteurs génétiques (Arslan *et al.*, 2007)

3-1-Extraction sélective des phénols totaux :

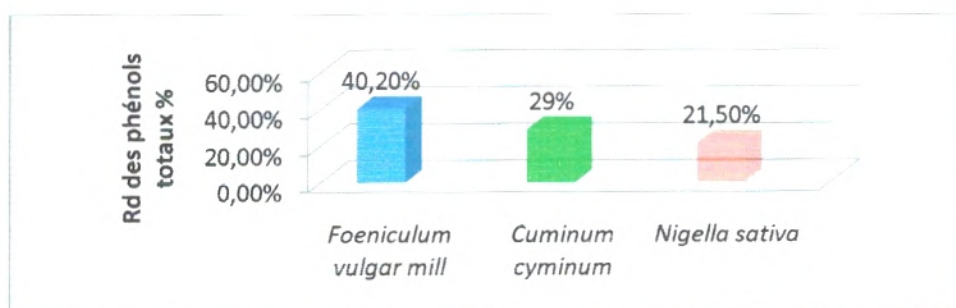


Figure N°9: Rendement massique des phénols totaux de *Foeniculum vulgare mill* ; *Cuminum cyminum* ; *Nigella sativa*

En comparant les résultats des 3 plantes, on remarque que *Foeniculum vulgare mill* possède une valeur largement supérieure (40.2%) des phénols par rapport aux deux autres plantes.

La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante, en effet la teneur phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturales, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) (Falleh *et al.*, 2008).

3-2-Extraction sélective des flavonoïdes :

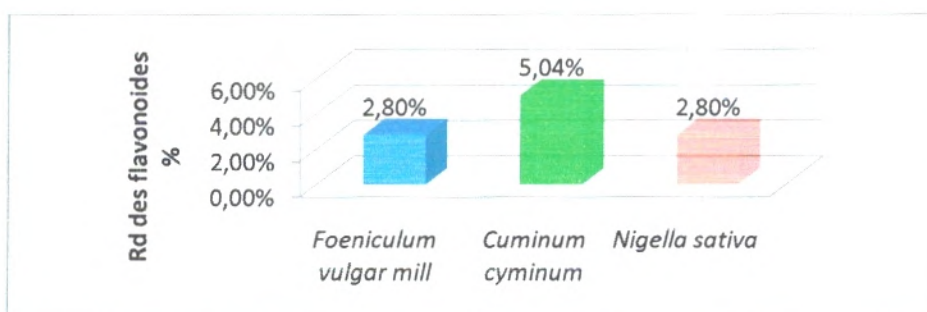


Figure N°10: Rendement massique des flavonoïdes de *Foeniculum vulgare mill* ; *Cuminum cyminum* ; *Nigella sativa*

La figure 10 montre que le rendement massique des flavonoïdes chez *Foeniculum vulgare mill* est le même que celui de *Nigella sativa* (2.8%), et inférieur à celui de *Cuminum cyminum* (5%)

Par rapport aux tanins, la teneur des flavonoïdes est faible cela peut être expliqué par leur localisation, ils sont généralement localisés au niveau de fruits et feuilles et fleurs (Lhuillier, 2007).

Les flavonoïdes se trouvent en abondance dans les familles suivantes : *Polygonacées*; *Rutacées*; *Astéracées*; *Légumineuses* (Milane, 2004) ce qui explique la présence des flavonoïdes en faible quantité chez le fenouil.

Les études faites sur le pouvoir antimicrobien des composés phénoliques sont nombreuses et bien connues (**Pereira et al., 2006**), dans ce contexte, les propriétés antimicrobiennes des extraits phénoliques et de l'huile fixe des graines de *Foeniculum vulgare mill* ont été testées vis-à-vis des souches Gram positif et négatif ainsi que des moisissures et levure.

Pour l'évaluation du potentiel antimicrobien de nos extraits nous avons préféré de les tester contre plusieurs cibles car chacune d'elles possède des structures cellulaires et un métabolisme particulier.

1-Bactéries et levure :

1-1- AntibioGramme :

C'est un examen qui permet de tester les réactions de sensibilité et/ou de résistance des micro-organismes aux différents types des antibiotiques.

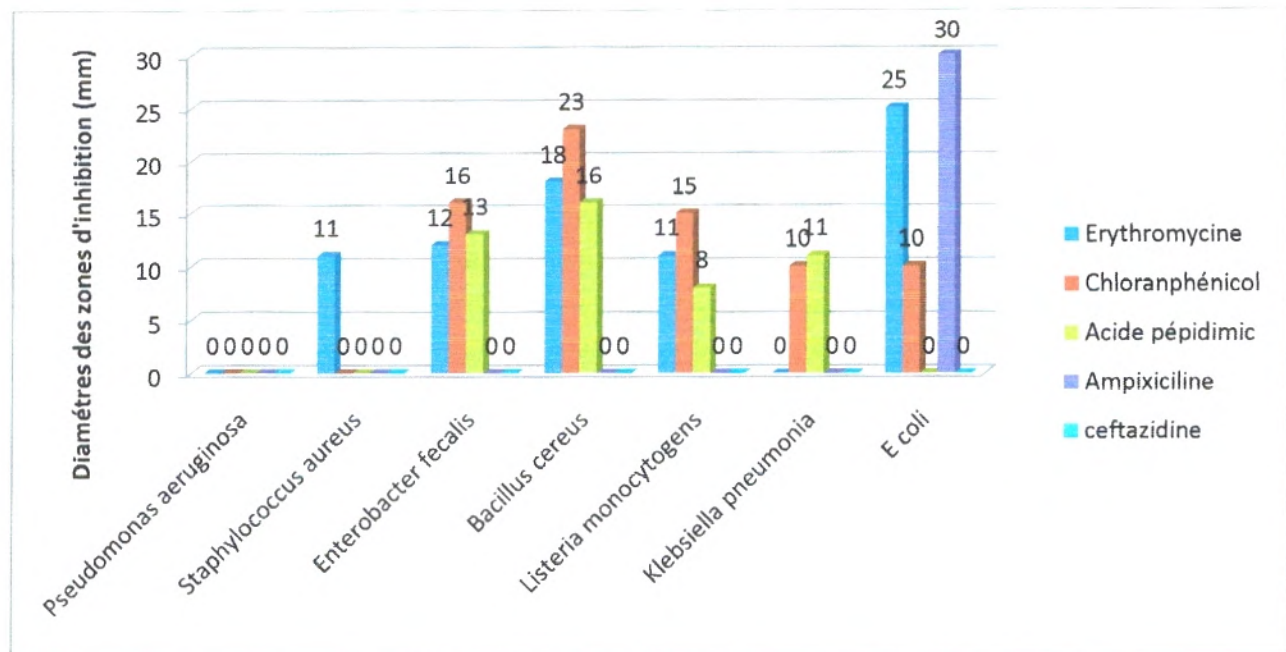


Figure N°13: Diamètres des zones d'inhibition relatives aux souches testées

D'après la figure 13 ; nous remarquons que la majorité des souches testées présentent une sensibilité envers les antibiotiques utilisés surtout : Erythromycine et le chloramphénicol à la différence de l'Amoxicilline, l'acide pépidimique et Ceftazidine qui ont marqué les plus faibles diamètres.

En effet, Les souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ont montré une résistance aux antibiotiques utilisés, les autres souches sont plus ou moins sensibles en particulier la souche *E coli* qui a présenté une résistance à l'Ampixicilline et ceftazidine.

Klebsiella pneumonia s'est montrée plus ou moins sensible au chloramphénicol et l'acide pépidimique avec une résistance aux : Ampixicilline, Ceftazidine, Erythromycine.

Entérobacter et *Listeria* ont présenté le même comportement au contact des ATB utilisés en montrant une résistance à l'Ampixicilline et ceftazidine.

Bacillus cereus s'est révélée beaucoup sensible au chloramphénicol, moins sensible à : Erythromycine, l'acide pépidimique et très résistante à Ampixicilline et Ceftazidine.

A des faibles concentrations, l'extrait des flavonoïdes a exercé un effet inhibiteur sur une seule souche celle de *Staphylococcus aureus*, ce résultat concorde avec les résultats de **Athamena (2008)** qui a testé l'action antimicrobienne des flavonoïdes des graines de cumin. Les résultats d'**Athamena (2008)** ont montré que les flavonoïdes de cumin sont actifs contre *Pseudomonas aeruginosa* (11mm), les flavonoïdes de fenouil ont aussi un effet inhibiteur sur la même souche mais plus important que celui de cumin avec 37mm de diamètre.

Les Tanins ont aussi un effet inhibiteur mais moins important que celui des flavonoïdes surtout sur : *S. aureus* (22mm) ; *L. monocytogens* (20mm) et *Candida albicans* (22mm).

Les phénols totaux ont exercé un pouvoir antimicrobien important sur les souches *E. coli* (15mm) et *Bacillus cereus* (20mm), Tandis que les flavonoïdes et les tanins séparés exercent mieux leur effet antimicrobien que les phénols totaux pour le reste des souches.

Brochers et al. (2004) déclarent que les extraits bruts peuvent être plus efficaces que les composés isolés, ainsi que les substances bioactives peuvent changer leurs propriétés en présence d'autres constituants, L'effet des phénols totaux de fenouil est meilleur que celui de chaque extrait isolé exerçant une activité importante uniquement contre les souches : *E. coli* et *Bacillus cereus*, on peut penser que l'effet des deux composés phénoliques ensemble donnent une bonne inhibition : effet synergie.

Contrairement aux composés phénoliques, L'huile fixe de fenouil n'a pas montré d'activités antimicrobiennes à l'exception de *Bacillus cereus* (10mm) par rapport à l'huile de la Nigelle, ce dernier possède un pouvoir inhibiteur important sur une vingtaine de souches de *Listeria monocytogenes* (**Nair et al., 2005**).

En résumé, tous les extraits étudiés ont la capacité d'inhiber au moins la croissance d'un microorganisme dans l'ordre : Flavonoïdes, Tanins, Poly phénol totaux vient ensuite l'huile fixe en dernière position. Les flavonoïdes de fenouil restent les plus efficaces contre la majorité des souches testées ; ces composés ont montrés un effet remarquable pour d'autres plantes : *Nigella sativa* (**Mezitti, 2008**) ; *Rosmarinus officinalis* (**Athamena, 2008**) ; *Erythraea centaurium* *L.pers* (**Benhamza,2008**) ; *Silybum marianum* (**Kechkar,2008**)....

La majorité des bactéries sont inhibées au moins par l'un des extraits, les plus sensibles : *P. aeruginosa* ; *S. aureus* et *Candida albicans*. D'autre part : *E. coli* ; *E. fecalis* ; *L. monocytogens* restent plus ou moins résistantes aux extraits testés.

Les extraits ont exercé un effet inhibiteur sur : *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, ce résultat est intéressant puisque ces deux souches ont montré une résistance aux ATB testés précédemment.

2-Champignons :

2-1-pouvoir antimicrobien de l'antifongique :

L'antifongique est utilisé pour empêcher la croissance des champignons.

Dans notre étude, nous avons déterminé le pourcentage d'inhibition des souches fongiques par un seul antifongique Amphotéricine B, et ceci à partir des diamètres des zones d'inhibition obtenus.

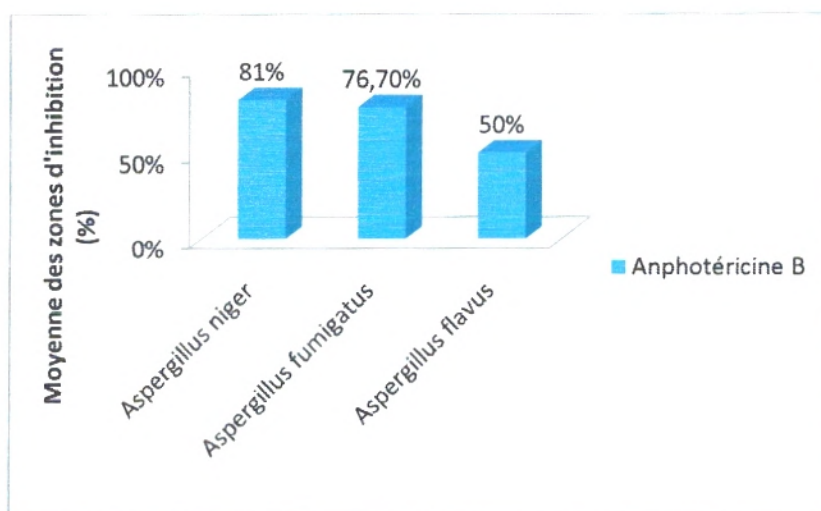


Figure N°15: Moyenne des zones d'inhibition relatives aux différents champignons

Les résultats obtenus montrent que l'antifongique utilisé réduit fortement le taux de croissance de *Aspergillus niger* et *Aspergillus fumigatus* avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre de 81% et 76.5% respectivement. Par contre, *Aspergillus flavus* s'est révélé moins sensible avec un pourcentage d'inhibition de l'ordre 50%.

2-2-pouvoir antifongique des extraits phénoliques :

Dans cette partie, nous avons étudié l'activité antifongique des extraits phénoliques et de l'huile fixe des graines de fenouil, en déterminant le pourcentage d'inhibition.

Les résultats de l'effet antifongique des extraits de : Tanins, Flavonoïdes, Phénols totaux et l'huile de fenouil sont représentés dans la figure 16 :

Aspergillus flavus c'est la seule souche fongique inhibée par tous les extraits de fenouil, les flavonoïdes reste l'extrait le plus actif au contact d'*Aspergillus flavus* avec un pourcentage d'inhibition de 70%, vient ensuite l'extrait des tanins (66.66%) et en dernière position les phénols totaux (46.66%). Les flavonoïdes constituent un groupe très important exerçant un pouvoir antifongique remarquable chez plusieurs plantes : les flavonoïdes des graines de *Juglans regia L* par exemple inhibent 50% de la croissance de *penicillium spp* et 19% de celle de *rhizopus stolonifer*. Les flavonoïdes des graines d'*Olea europae L* sont efficaces contre plusieurs champignons potentiellement néfastes pour l'homme responsable de mycoses ou d'infections intestinales (Maria, 2005)

L'huile fixe de fenouil a donné un très bon pouvoir inhibiteur sur les trois souches d'*Aspergillus*, cet extrait a inhibé la totalité de la croissance d'*Aspergillus niger* (100%), et 89.5% de celle d'*Aspergillus fumigatus*, on remarque que l'effet de l'huile de fenouil est meilleure que celui de l'antifongique Amphotéricine B. le même effet est remarquable pour cet extrait concernant *Aspergillus flavus* avec un pourcentage d'inhibition 43.33%.

L'huile fixe de fenouil reste l'extrait antifongique le plus efficace, ce composé a montré un effet remarquable pour d'autres plantes ; L'huile fixe de *Nigella sativa* par exemple présente une excellente activité antifongique, notamment sur *Aspergillus niger* (Agrawal et al., 1979). L'huile fixe de fenouil peut être utilisée pour le traitement de certaines mycoses due à *Aspergillus*.

Conclusion

C'est suite aux connaissances anciennes des bienfaits des plantes que la persévérance des botanistes, herboristes et chimistes a réussi à percer le secret des métabolismes des plantes permettant ainsi l'isolement de nombreux principes actifs des végétaux. C'est dans ce contexte la que nous avons choisi les graines de fenouil (*Foeniculum vulgare mill*) « besbes » comme étant une substance diurétique et carminative. Ceci dans le but de réaliser une étude de détermination de ses métabolites secondaires et aussi pour une éventuelle estimation de ses pouvoirs antimicrobiens.

Tout d'abord, on a montré que notre échantillon n'est pas riche en eau 10.88%, l'extraction sélective des métabolites secondaires nous a permis de constater que le rendement des phénols totaux (40.2%) et des tanins (39.4%) sont relativement élevés par rapport au flavonoïdes (3.5%), l'huile fixe de fenouil a donné un rendement assez moyen (10%).

L'étude du pouvoir antimicrobien des extraits phénoliques et de l'huile fixe des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare mill*) vis-à-vis des souches microbiennes (7 souches bactériennes ; 3 moisissures et 1 levure) a permis de montrer que les flavonoïdes possèdent un effet antimicrobien très important sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* qui sont résistantes aux antibiotiques. L'extrait des tanins exerce aussi un effet inhibiteur surtout sur *Listeria monocytogenes* et *Candida albicans*. Cependant, l'huile fixe de fenouil n'a exercé une activité antimicrobienne que sur *Bacillus cereus*.

Concernant le pouvoir antifongique, l'huile de fenouil a marqué le pourcentage d'inhibition le plus élevé avec une concentration de 100µl contre *Aspergillus niger* (100%), *Aspergillus fumigatus* (90%) et *Aspergillus flavus* (43%) ce qui n'a pas été observé pour les bactéries. A la même concentration, les extraits phénoliques ont marqués aussi un bon effet antifongique contre *Aspergillus flavus* dont : flavonoïdes (70%), tanins (67%) et phénols totaux (47%).

Le fenouil ouvre des perspectives d'améliorations par ses activités antimicrobiennes et antifongiques, en fin, l'ensemble de ces résultats obtenues in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active, De ce fait, nous espérons que dans le futur, des études sur la détermination des métabolites secondaires des graines de fenouil seront réalisées en augmentant les concentrations de l'huile fixe et refaire ces tests sur un grand nombre de souches. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

Références

Bibliographiques

A

- Abdel M.F., Wahab S.A., Kinawi E.I., 1961. Radioisotope , A.E.E., Dokki, Caire
- Abrassart J.L., 2001. Aromathérapie essentielle (huiles essentielles et parfum pour le corps et l'âme). Guy Trédaniel Editeur- FLORILAB
- Agrawal, R., Kharya, M.D., Shrivastava, R., 1979. Antimicrobial anthelmintic activities of the essential oil of *Nigella sativa* Linn. *Indian journal of experimental biology*. **17**: 1264-1265.
- Audigie C.L., Figarelle J., Zonis Zani F., 1980. Manipulation d'analyses biochimiques. Ed. Doin. Paris :88-97
- Ahn J., Lee H., Park J., Ha T., 2008. The anti-obesity effects of quercetin is mediated by the AMPK and MPK signaling pathways. *Biochemical and biophysical research communications*, **373**: 545-549
- Alibert G., Ranjeva R., Boudet M.A., 1977. Organisation subcellulaire des voies de synthèse des composés phénoliques. *Physiol. Veg.* **15**:279
- Anonyme, 2010. Reproduction is authorised provided the source is acknowledged. London
- Arrufat A., 2009. Le fenouil en agriculture biologique. Fiche CIVAMBIO66
- Arslan, D, Musa ozcan, M., 2007. Evaluation of drying methods with respect to drying kinetics, mineral content and colour characteristics of rosemary leaves. *Energy Conversion and Management*.
- Athamana Souad, 2008. Etude quantitative des flavonoïdes des graines de *Cuminum cyminum* et les feuilles de *Rosmarinus officinalis* et évaluation de l'activité biologique. En vue d'obtention Magister En Biologie.

B

- Belaiche P., 1979. Traiter de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1, l'aromatogramme .Maloine S.A. Editeur, Paris: 173-147.
- Benhamza Louiza, 2008. Effets Biologiques de la petite Centauree *Erythraea centaurium* (L.)Pers. En vue d'obtention doctorat d'état en Sciences Vétérinaires option : Anatomie Pathologique /Pharmacologie
- Berthod A., Billardello B., Geoffroy S., 1999. Polyphenol in counterwrent chromatography. An exemple of large scale separation 1. *Analisis. EDP. Sciences. Wiley. VCH.* (27):750-757
- Bi J.L., Felton G.W., Murphy J.B., Mowles P.A., Dixon R.A., Lamb C.J., 1997. Do plant phenolics confer resistance to specialist and generalist insect herbivores? *J. Agric Foodchem* (45):4500-4504
- Borel M., 1997. La gastronomie, le fenouil, saveur d'origine
- Brouillard R., Figueiredo P., Elhabiri M., Dangles O., 1997. Molecular interactions of phenolic compounds in relation to the colour of fruits and vegetables ; *Phytochemistry of fruit and vegetables proceedings of the phytochemical society of Europe.* Oxford, UK: Clarendon Press: 30-49

-Bruneton J.,1987. Pharmacographie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, *Tec et Doc*. Paris

-Bruneton J.,1993. Pharmacographie et phytochimie. Plantes médicinales. Paris, France.Lavoisier : 278-279

-Bruneton J.,1999. Pharmacographie. phytochimie, plantes médicinales, 3^e édition. Ed. *Tec et Doc*

-Burnichon N., Texier A.,2003. I.'antibiogramme: détermination des sensibilités aux antibiotiques. DES bactériologie

-Brochers A.T., Keen C.L., Gerstwin M.E.,2004. Mushrooms, tumors and immunity; an update. *Exp Biol. Med.* 229:393-406

C

-Chabert J., Dacheux D., Satre M. , Attree I.,2002. Role and activation of type III secretion system genes in *Pseudomonas aeruginosa* induced. *Drosophila Killing. Microb Pathog*,**32**:287-295

-Chang K. T., Wer Y.C.I., Michael G., Johnsonx, 1998. Are tannins a double- edge sword in biology and health? *Trends in food science and technology* (9):168-175

D

-Dauguet J.C., Foucher J.P.,1982. Plantes médicinales et phytothérapie. L'actualité chimique **16**(3) :185-191

-Derbel S., Ghedira K., 2005. Phytothérapie.Laboratoire de Pharmacologie; Faculté de pharmacie, rue Avicenne; 5000 Monastir, Tunisie.**1**:28-34

E

-Ernst D., 1989. Biotechnology in agriculture and forestry medical and aromatics plants II. Ed. By Y.P.S Bajaj, Springer, verlag-Berlin (7):381-397

-Ertürk, Ö. (2006) Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. *Biologia, Bratislava.* **61**: 275-278.

F

-Fachmann, Kraut, 1995. Composition des aliments. D'après répertoire générale des aliments, REGAL. Ed. Log Access. APRIFEL

-Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouroufi, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C., 2008 Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities .*C. R. Biologies.* **331**: 372-379.

-Fandohan P., Gbenou J.D., Gbolofin B.,2004. Effect of essential oils on the Growth of *Fusarium verticilloides* and *Fumonisin* Contamination in Corn.*J.Agric.Food Chem*, **52**:6854-6829

-Fleurentin F., Misslin R., et Pelt J.M., 1990. Caractéristiques des composés actifs. 11^{er} colloque Européen d'ethnopharmacologie

- Fujioka T., Furumi K., Fujii H., Okabe H., Mihashi K., Nakano Y., Matsunga H., Katano M., Mori, M., 1999, Antiproliferative constituents from umbelliferae plants., V. A., New furanocoumarin and faltarindiol furanocoumarin ether from the root of *Angelica japonica*. Chem. Pharm. Bull, **47**:96-100

G

- Garcia -Agaez A. N., Apant T. G. R., Delgado H. P., Velazquez G.,Maetinez-Vazquez, M., 2000. Anti-Inflammatory activity of coumarins from *Decatropis bicolor* on TPA ear mice model. Planta Med., **66**: 279-281.

-Garnier G., Bezanger B.L., Debraux G.,1961. Ressources médicales de la flore française. Tome 2, Ed. Vigot freres. Paris 5: 900-902

-Grieve M., 1995. A modern herbal Ed. Electruc Newt

-Guerin-fauble V., Carret G.,1999. L'antibiogramme : principes, méthodologie, intérêt et limites. Jnees nationales GTV-INRA.5-12. Antioxidant Activity of different flavonoids by the chemiluminescence method. AAPS Pharm. Sci,5:2-5

H

-Harbone J.B., Williams C.A.,2000. Advances in flavonoids research since 1992. Phytochemistry.**55**:481-504

-Hostattman K., Marston A., 1995.Saponing In "chemistry and pharmacology of natural products series, Phillipson JO; Ayres DC and Baxter H. Ed". Cambridge Leniversity press. Cambridge:122-174

I

-I.S.O 659, 1988. Graines oléagineuses, détermination de la teneur en huile. *International Organisation for Standardization (ISO), Geneva*

J

-Joffin J-N., Leyral G.,2001. Microbiologie Technique. Dictionnaire des techniques. Collection Biological Thechnique 3Ed. CNDP.312

-Jons Jakob B., Antoine J., Louis J., Melchior E., 1861. Traité de chimie minérale, végétale et animale. (5)

K

-Karasse A., 1999. Contribution à l'analyse physico-chimique de l'huile essentielle de la graine de *Foeniculum vulgare Mill* (Fenouil) et dosage des protéines et lipides. Mémoire pour obtention de

diplôme d'étude supérieur en biologie. Option Biochimie. Institut des sciences de la nature. Université de Tlemcen

-Kechkar Madina ,2008.Extraction de la Silymarine et étude de son activité antimicrobienne En vue d'obtention de grade Magister en microbiologie appliquée option Biotechnologie microbienne.

-Kunzemann J., Herrmann K.Z., 1977.Isolation and identification of Flavonol-O-glycosides in Caraway (*Carum carvi* L), Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). Anise (*Pimpinella anisum* L) and Coriander (*Coriandrum sativum* L), and Flavonol-C-glycosides in Anise. *Lebensm-Unters-Forsch*, 164:194-200 Chem. Abstr

- Kuselman I., Tur'yan Ya I., Burenko T., Goldfelt I., Anisimov B., 1999.*Talanta*, **49**: 629-637

L

- Lamnouar, Y. , Kabouss A. El, Charrouf Z., Oumzil H., Faid M., Miyata D., Biofutur K.,2002. Triterpenoid Saponins from the shell of *Argania spinosa* .

- Lazouni H. A., Benmansour A., Chabane Sari D., Smahi M. Dj. E., 2006. Valeurs nutritives et toxicité du *Foeniculum vulgare* Miller. Département de biologie, Faculté des sciences, Université Aboubekr BELKAID, Tlemcen, Algérie. *Journal Afrique Science*

-Leung A.Y., Foster S., 1996. *Encyclopaedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics*. Second Ed. New York : John Wiley and Sons, Inc

- Lhuillier, A. ,2007. Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*), *Tambourissa trichophylla* Baker (*Monimiaceae*) et *Embelia concinna* Baker (*Myrsinaceae*). Thèse de doctorat. Toulouse

-Lugasi A., Hovari J., Sagi K., 2003. The role of antioxydant phytonutriments in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szgediensis*.47 (1) :119-125

M

-Maria B.,2005. L'olivier prête ses feuilles à la phytothérapie, L'olivier Trésor et santé. Un fruit, une huile aux vertus millénaires. Ed ISBN : 79-82

- Macheix J.J., Fleuriet A., Jay Allemand C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux ISBN2-88074-625-6.

-Marfak A., 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. Thèse de doctorat. Soutenance devant l'université de Limoges. Faculté de pharmacie

-Marotti M., Dellacecca V., Piccagliar R., Giovanelli E., 1993. Agronomie and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. Ed.Pologna. Italy :63

- Marotti M., Dellacecca V., Piccagliar R., Giovanelli E., Deans S., Eaglesham E., 1994. Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Journal of Essential Oil Research*. **6**(1):57-62

- Martin J.C., Dobarganes M.C., Nour M., Marquez-Ruiz G., Christie W.W, Lavillonnière F., Sébédio J. L., 1998. *Oil. Chem. Soc.* 75, 1065-1071
- Maxwell C.A., Phillips D.A.,1990. Concurrent synthesis and realize of nod-gene-including flavonoid from alfalfa roots. *Plant physicalol* ,**93** :1552-1558
- Memelink J., Verpoorte R., Kijine J.W., 2001. Organisation of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. *Trends in Plant Science.* **6** (5) :212-219
- Mered Chiali R.,1973. contribution à la connaissance de la aromacopée traditionnelle Algérienne. thèse de doctorat d'état en pharmacie. Alger
- Meziti Asma ,2008. Activité antioxydante des extraits des graines de *Nigella sativa* L Étude in vitro et in vivo en vue d'obtention du Diplôme de Magister en biochimie appliquée
- Milane, H., 2004. La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. Thèse de doctorat. Strasbourg.

N

- Nair, M.K.M., Vasudevan, P., Venkitanarayanan, K. 2005. Antibacterial effect of black seed oil on *Listeria monocytogenes*. *Food Control.* **16**: 395-398.
- Neyrat P.,1997. Ligne et santé-Nutritionniste, diététicienne

O

- Ornella Zovi., 2009. Fonctionnalisation et photopolymérisation de l'huile de lin en vue de l'élaboration de nouveaux matériaux sans émission de composés organiques volatils (COV) Thèse de doctorat de l'INSA de Rouen ,Spécialité : Chimie macromoléculaire, Ecole Doctorale Normande de Chimie

P

- Paul Iserin, 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Identification, Préparation, Soins. 2Ed Andrew Chevallier ISBN
- Paris M., Hurabielle M.,1981. Abrégé de matière médicale (Pharmacognosie 0. Tome1, Généralités-Morphologies. Ed Masson, Paris. ISBN : **225** (2) :182-216
- Pauze- schirey N., 2002. Caractérisation of some Italian types of wild fennel (*Foeniculum vulgare* Mill). *Journal of agricultural and food chemistry.* **49** (1):239-244
- Peterson L., Menary R., 1996. Essentiel oils of Tasmania. L.D.T
- Pereira J.A., Pereira A.P.G., Ferreir I.C.F.R., Valento P. , Andrade P.B., Seabra R., Estevinho L., Bento A., 2006. Table olives from Portugal: Phenolic compounds , antioxidant potential and antimicrobial activity. *J.Agric.Food Chem.* **54**:8425-8431

Q

-Quezel P., Santa S., 1962. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales.

R

-Resch M., Steigel A., Chem Z.L, Bauer R., 1998. 5-Lipoxygenase and cyclooxygenase-1 inhibitory active compounds from *Atratyloides iancea*. *J. Nat. Prod.*, **61**: 347-350

-Rice-Evans C.A., Miller N. J., Bolwer P.G., Bramley P.M., Ridham J.B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.* **22**:375-383.

-Roberto C., 1982. Les plantes médicinales. Ed. Mondavori averone. Italie

-Rodzko V., 1999. Abecedaires de phytothérapie

S

-Svoboda K.P., Hampson J.B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. Plant biology Department, SAC Auchincruive, AYR, Scotland. UK. KA65HW

T

-Trease E., Evans W.C. 1987. Pharmacognosy. Billiare. Tindall. London 13 Ed:61-62

V

-Verdar-U "nlu" G., Candan F., So Kme A., Daferera D., Polissiou M., So Kmen M., 2003. Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. Et Mey. Var *Pectinatus* (Lamiaceae). *Journ of Agri and food chem.* **51**: 63-67

-Verdon M., Goldmann T., Collard M., 2002. Le fenouil. Le jardin mangeable

-Volak J., Stodola J., 1985. Plantes médicinales. Ed. Grund. Paris

W

-Wang J., Mazza G., 2002. Effects Anthocyanins and other Phenolics compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN-Activated RAW; 264.7 Macrophages. *J.Agric, Food chem.* **50**:4183-4189

-Wang S.-Y., Chen P.-F., Chang S.T., 2005. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osphleoum*) leave against wood decay fungi. *Bioresources. Technology*, **96**:813-818

-Wattiaux M. A., 1997. Nutrition et alimentation. Composition et analyse des aliments

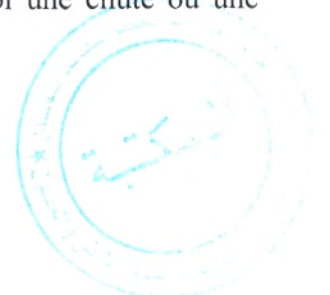
- Wichtl M., Anton R., 1999. Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. 3 Ed *Tec et Doc* :189-190
- Wink M., 1999. Plant secondary metabolites from higher plants: biochemistry, function and biotechnology. *Biochemistry of Plant Secondary Metabolism*, Sceafield Academic: 1-16
- Wojdylo, A., Oszmianski, J., Czemerys, R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 105: 940-949.

Glossaire

- Antirhumatismale** : les remèdes que l'on emploie contre des rhumatismes
- Antiseptique** : qui prévient l'infection
- Antispasmodique** : les remèdes qu'on l'on emploie contre les spasmes
- Carminatif** : les remèdes qui ont la propriété d'expulser les gaz de l'intestin
- Candimant** : substance aromatique que l'on ajoute à l'aliment pour relever la saveur
- Cellulite** : inflammation du tissu cellulaire sous-cutané
- Colique** : douleur paroxystique de l'abdomen, caractérisée par des crampes périodiquement répétées et provoquées, les coliques se traitent par des antispasmodiques
- Curatives** : destiné à la guérison des maladies
- Diurétique** : Achève le processus d'élimination en épurant le sang des toxiques qu'il contient
- Dyspepsie** : Digestion difficile
- Flatulences** : Accumulation de gaz gastro-intestinaux
- Galactogogue** : stimulation de la sécrétion lactée
- Laxative** : se dit d'un purgatif léger, comme le miel, les pruneaux
- **Ombelle** : type d'inflorescence dans laquelle les pédoncules sont attachés au même point et s'arrêtent à la même hauteur.
- **Phénols** : carbure aromatique (cycle benzénique) portant un ou plusieurs groupements

Hydroxyles

- Rhumatisme** : est une atteinte inflammatoire ou dégénérative d'une ou plusieurs articulations.
- Spasme** : contraction involontaire d'un groupe musculaire
- **Vulnéraire** : en application externe, elle contribue à la guérison des plaies, mais elle peut aussi être administrée oralement pour réanimer les personnes ayant subi une chute ou une blessure.



Annexe

Agar pH=7.4 17g

Sabouraud :

Peptone 100g/l
Glucose 20g/l
Agar 15g/l
Chloramphinicol 0.5g/l

• PDA (Potato Dextrose Agar) :

Pomme de terre 200g/l
Saccharose 10g/l
Agar 15g/l

**Annexe 3 : Diamètres des zones d'inhibition relatives aux souches testées :
Antibiogramme :**

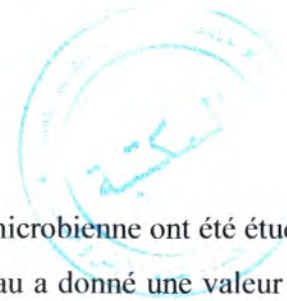
Souches /ATB	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>E. coli</i>
AMC	-	-	-	-	-	-	3
CAZ	-	-	-	-	-	-	-
E	-	-	1.2	1.1	1.1	1.8	2.5
C	-	1	1.6	-	1.5	2.3	1
PI	-	1.1	1.3	-	0.8	1.6	-

Annexe 4: Diamètres des zones d'inhibition des extraits testés relatifs aux souches étudiées : Aromatogramme :

Extraits/Souches Volumes des extraits	Tanins			Flavonoïdes			Phénols totaux			Huile fixe		
	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
<i>Pseudomonas aerrugrnosa</i>	-	-	-	-	2.1	3.7	-	-	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	1.1	-	-	1.5	2.7	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	1.1	-	-	-	-	-	-	1.6	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	1.8	2.2	2	2.5	2.8	-	-	1.5	-	-	-
<i>Listeria monocytogens</i>	1.6	1.7	2	-	-	-	-	-	1.5	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	1.4	-	1.5	-	-	-	-	1	2	-	-	1
<i>E coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	1.5	1.5	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	1.7	2.1	2.2	-	-	1.6	-	-	-	-	-	-

Annexe 5: Diamètres des zones de croissance des moisissures (en mm) en présence des extraits phénoliques à une concentration de 100µl :

	Tanins	Flavonoïdes	Phénols totaux	Huile fixe	Témoin
<i>Aspergillus niger</i>	8.6	8.6	8.6	0	8.6
<i>Aspergillus flavus</i>	1	0.9	1.6	1.7	3
<i>Aspergillus fumigatus</i>	8.6	8.6	8.6	0.9	8.6



Résumé :

Le rendement en poly phénol et en huile fixe ainsi que l'activité antimicrobienne ont été étudiés sur les graines de fenouil (*Foeniculum vulgar mill*) « Besbes ». La teneur en eau a donné une valeur de 10% et l'huile fixe extraite par soxhlet a mentionné un rendement de 10.8%. Dans cette étude, les principes actifs de *Foeniculum vulgar mill* sont extraits par la méthode des solvants successifs : éthanol, eau et éther diétylique.. La détermination du rendement en phénols totaux a donné une rentabilité massique de 40.5 % à savoir 39.5% des tanins et 3.5% des flavonoïdes.

Ces extraits sont testés in vitro par diffusion sur gélose sur plusieurs espèces microbiennes pathogènes (bactéries, moisissures et levure). Les extraits phénoliques ont exercé un effet inhibiteur sur quelques espèces dont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* étaient les plus sensibles et *E.coli*, *Listeria monocytogens* les plus résistantes ; notant que les flavonoïdes exercent le meilleur pouvoir antimicrobien. L'huile de fenouil a exercé une seule activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus*. D'autre part, l'huile de fenouil a exercé un très bon pouvoir antifongique contre les trois souches fongiques : *Aspergillus niger* ; *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Tandis que, les extraits phénoliques ont exercé un effet inhibiteur seulement contre *Aspergillus flavus*.

Mots clés : *Foeniculum vulgar mill*, graines, composés phénoliques, huile fixe, activité antimicrobienne

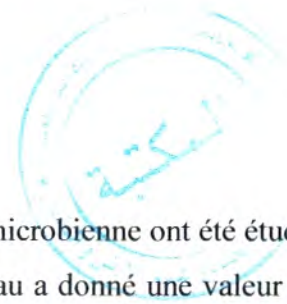
Summary:

The total phenols, fixed oil content and antimicrobial activities were studied in *Foeniculum vulgar Mill* « Besbes » seeds. The Water showed a value of 10%, fixed oil of fennel extracted by Soxlet show a rendement of 10.8%. In this study, the active ingredients of *Foeniculum vulgar Mill* are extracted by the successive solvents method: ethanol, Water and ethyl acetate. The phytochemical preliminary study is based on specific tests that permit the Tanins and Flavonoids characterization. The determination of total phenols performances showed a value of 42.5% with: 3.5 flavonoids, 39.5 % tanins.

Theses extracts are tested in vitro agar diffusion method on several microbial species (bacteria, molds and yeast). The phenolic extracts inhibited the growth of some species being *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* the most sensitive and *E.coli*, *Listeria monocytogens* the most resistant. The flavonoids had a best antimicrobial activity. Fixed oil showed one antimicrobial activity against *Bacillus cereus*.

However, fixed oil showed an excellent antimicrobial activity against fungi: *Aspergillus niger* ; *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. In order way *Aspergillus flavus* was susceptible to the total phenols.

Key words: *Foeniculum vulgar mill*, seeds, phenolic compounds, fixed oil, antimicrobial activity



Résumé :

Le rendement en poly phénol et en huile fixe ainsi que l'activité antimicrobienne ont été étudiés sur les graines de fenouil (*Foeniculum vulgar mill*) « Besbes ». La teneur en eau a donné une valeur de 10% et l'huile fixe extraite par soxhlet a mentionné un rendement de 10.8%. Dans cette étude, les principes actifs de *Foeniculum vulgar mill* sont extraits par la méthode des solvants successifs : éthanol, eau et éther diétylique.. La détermination du rendement en phénols totaux a donné une rentabilité massique de 40.5 % à savoir 39.5% des tanins et 3.5% des flavonoïdes.

Ces extraits sont testés in vitro par diffusion sur gélose sur plusieurs espèces microbiennes pathogènes (bactéries, moisissures et levure). Les extraits phénoliques ont exercé un effet inhibiteur sur quelques espèces dont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans* étaient les plus sensibles et *E.coli*, *Listeria monocytogens* les plus résistantes ; notant que les flavonoïdes exercent le meilleur pouvoir antimicrobien. L'huile de fenouil a exercé une seule activité antimicrobienne contre *Bacillus cereus*. D'autre part, l'huile de fenouil a exercé un très bon pouvoir antifongique contre les trois souches fongiques : *Aspergillus niger* ; *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. Tandis que, les extraits phénoliques ont exercé un effet inhibiteur seulement contre *Aspergillus flavus*.

Mots clés : *Foeniculum vulgar mill*, graines, composés phénoliques, huile fixe, activité antimicrobienne

Summary:

The total phenols, fixed oil content and antimicrobial activities were studied in *Foeniculum vulgar Mill* « Besbes » seeds. The Water showed a value of 10%, fixed oil of fennel extracted by Soxlet show a rendement of 10.8%. In this study, the active ingredients of *Foeniculum vulgar Mill* are extracted by the successive solvents method: ethanol, Water and ethyl acetate. The phytochemical preliminary study is based on specific tests that permit the Tanins and Flavonoids characterization. The determination of total phenols performances showed a value of 42.5% with: 3.5 flavonoids, 39.5 % tanins.

Theses extracts are tested in vitro agar diffusion method on several microbial species (bacteria, molds and yeast). The phenolic extracts inhibited the growth of some species being *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* the most sensitive and *E.coli*, *Listeria monocytogens* the most resistant. The flavonoids had a best antimicrobial activity. Fixed oil showed one antimicrobial activity against *Bacillus cereus*.

However, fixed oil showed an excellent antimicrobial activity against fungi: *Aspergillus niger* ; *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus*. In order way *Aspergillus flavus* was susceptible to the total phenols.

Key words: *Foeniculum vulgar mill*, seeds, phenolic compounds, fixed oil, antimicrobial activity