



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique Et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Constantine 1 Frères Mentouri
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة قسنطينة 1 الإخوة منتوري
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : علم الاحياء المجهرية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques / Biotechnologies / Écologie et Environnement

Spécialité : Ecologie microbienne

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude des activités biologiques de quelques plantes de la famille des
Apiacées *Foeniculum vulgare* et *Anethum graveolens***

Présenté par : Talbi faiza

Le : 11/06/2024

Benkolli Douniazed.

Jury d'évaluation :

Président : GHORRI Sana (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : BENSERRADJ Ouafa (MCA - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s): ZAAMOUCI Ahlem (MCB - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Année universitaire

2023 - 2024



Remerciement

Au terme de notre travail, nous tenons à exprimer nos Remerciements les plus sincères Au bon Dieu pour la patience et la Santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Nous exprimons nos remerciements et notre profonde gratitude : A notre promotrice Mme BENSERRADJ, Cuafa de nous avoir encadré Ainsi que pour les conseils, les orientations et le temps qu'elle a consacré pour la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements au Président de jury Mme GHORRI Sana pour nous avoir Consacré de son temps en nous faisant l'honneur d'accepter de Présider le jury.

Nous remercions également , Mme ZAMOUCHI Ahlem. pour nous avoir fait l'honneur D'examiner ce travail.

Nous tenons à remercier profondément Me CHAWKI de Nous avoir accueillis au sein de son labo, pour son aide et ces conseils.

On tient aussi à remercier tous le personnel du laboratoire en Particulier Mme SAMIRA pour sa patience et son aide.

Enfin, on remercie profondément nos chers parents pour leur Soutien moral et matériel durant nos études ainsi que toute personne Ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicace

Avec l'aide de « ALLAH » le tout puissant, qui a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie : Aux êtres les plus chers à mon cœur, Mes très chers, respectueux et magnifiques parents qui m'ont soutenu tout au long de ma vie et mes études. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

À mon père : HACEN

Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras. Pour son enseignement continu à m'inculquer les vraies valeurs de la vie et pour ses précieux conseils.

J'espère que cette mémoire sera à la hauteur de tes attentes et qu'elle soit l'accomplissement de tous tes efforts.

À ma mère. AMEL

Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité son écoute permanente et son soutien sans égal dans les moments les plus difficiles de ma vie.

Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous mes chers parents que je le dois, que Dieu vous garde.

À Mon très chers frères Monsaf.

À Mes très chères sœurs : Malek, Chahd.

À Ma chère tante : SEKHRI CHAHIDA.

À tous les membres de la famille BENKOLLI, SAHRAOUI, essentiellement ,ma grande mère NAANA, et à la mémoire de mes chers grands-parents , avec amour et gratitude éternels ; mes chères oncles .

À tous mes Enseignants depuis le primaire, qui ont contribué et influencé dans l'élaboration de ma forte personnalité .

À mes amies surtout : RAJEM NOUR EL YAKJIN et toute sa famille

Ma chère CHAHJ, SOUHA ,NOUSSA ,LJNA

À tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de loin à tous ceux m'aiment

À toute la promotion master 2 2019-2024.Option Microbiologie.

Merci pour tous les bons moments que nous avons partagés.

À tous qui me connaisse, À Tous ceux qui m'ont aidé directement ou indirectement dans la réalisation de ce mémoire de près ou de loin.

DOWNIAZED



DÉDICACE

A mes très chers parents :

A ma chère maman qui dieu ait pitié de son âme.

A mon Cher père pour leur sacrifice leur confiance leur engagement et tout ce que je dis est peu que dieu le protège.

Quoi que je fasse ou je dis je ne saurai point vous remercier comme il se doit.

A mes sœurs Hana Zahra Chahinez , je vous remercie pour les efforts que vous faites avec moi en tout.

A ma grande famille et petites familles et surtout mes proches a ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité que dieu protège

Je les remercie pour les efforts qu'ils ont fait pour moi et pour m'avoir aidé dans beaucoup de choses sur tout moralement même avec un mot.

A tous les amis que je connais jusqu'à maintenant un grand merci pour leur soutien et leurs engagements.

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail a ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère .

Table des matières

Liste des Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Erreur ! Signet non défini.

Chapitre 1 La famille des Apiacées 5

1.1. Historique 5

1.2. Aspect botanique 5

1.3. Classification de la famille des Apiacées 6

1.4. Distribution 7

1.5. Utilisations traditionnelles 8

1.6. Activités biologiques et pharmacologiques 8

Chapitre 2 Activités biologiques de la *Foeniculum vulgare* et de l'*Anethum graveolens* 9

1. *Foeniculum vulgare* 9

1.1. Généralités 9

1.2. Taxonomie et classification 10

1.3. Habitat et répartition géographique 10

1.4. Utilisation thérapeutique du fenouil 11

2. *Anethum graveolens* (*aneth*) 12

2.1. Généralités 12

2.2. Taxonomie et classification 14

2.3. Distribution géographique de l'*Anethum graveolens* 15

2.4. Utilisation thérapeutique de l'*Anethum graveolens* 15

3. *Les activités biologiques* 17

3.1. Activity anti oxydante 17

3.2. Activité antibactérienne 19

3.3. L'activité antifongique 20

Matériel et Methodes Erreur ! Signet non défini.

1. Matériel végétal 22

1.1. Préparation du matériel végétal 22

1.2. Extraction des composés phénoliques 22

1.3. Calcul du rendement des extractions (Rdt%) 25

2. Activités biologiques 25

2.1. Préparation des dilutions des extraits	25
2.2. Test du pouvoir antioxydant	26
2.2.1. La méthode au DPPH (diphénylpicrylhydrazyl)	26
2.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS [•]	27
2.2.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe ²⁺ - phénanthroline	28
2.2.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	29
2.3. Test du pouvoir antibactérien	30
2.3.1. Bactéries test	30
2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne	31
2.4. Test du pouvoir antifongique	33
2.4.1. La réactivation des isolats fongiques	33
2.4.2. Préparation des suspensions fongiques	33
2.4.3. La technique des puits	33
Résultats et discussion	Erreur ! Signet non défini.
1. Détermination du rendement	36
2. Activités biologiques	36
1.1. Test du pouvoir antioxydant	36
1.2. Test du pouvoir antibactérien	41
1.3. Test du pouvoir antifongique	48
Conclusion et perspectives	Erreur ! Signet non défini.
Références bibliographiques.....	57
Résumés	

AFNOR : association française de normalisation

ABTS : acide 2,2'-azino-bis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)

ATCC : American Type Culture Collection

A0.5: la concentration à l'absorbance 0,5

CM : Concentration minimale inhibitrice

DMSO : Diméthyle sulfoxyde

DPPH• : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

E.coli : Escherichia coli

HE : huiles essentielles

FRAP : Ferric reducing antioxidant power

IC50: Concentration inhibitrice à 50%

MH: Mueller Hinton.

M-OH : méthanol

Ms : matière sèche

Rdt : Rendement des extraits

Tableau 1 : Répartition mondiale des genres des Apiaceae (Ebrahimzadeh et al., 2009).	7
Tableau 2 : Classification taxonomique de <i>Foeniculum vulgare</i> (Abou El-Soud et al., 2011)	10
Tableau 3 : Caractéristiques de l' <i>Anethum graveolens</i>	13
Tableau 4 : Classification taxonomique d' <i>Anethum graveolens</i>	15
Tableau 5 : Caractéristiques des souches bactériennes utilisées	31
Tableau 6 : La sensibilité des souches vis-à-vis des extraits	32
Tableau 7 : Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des graines de <i>Foeniculum vulgare</i> ; des graines et des fleurs de <i>Anethum graveolens</i>	36
Tableau 8 : Inhibition du radical libre DPPH par les extraits	37
Tableau 9 : Inhibition du cation radical ABTS par les extraits	38
Tableau 10 : Inhibition du complexe Fe ⁺² - phénantroline	39
Tableau 11 : Pouvoir réducteur des extraits fongiques par le test FRAP	40
Tableau 12 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines de <i>Foeniculum vulgare</i> vis-à-vis les quatre bactéries testées	41
Tableau 13 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines d' <i>Anethum graveolens</i> vis-à-vis les quatre bactéries testées	42
Tableau 14 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des Fleurs d' <i>Anethum</i>	43
Tableau 15 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines de <i>Foeniculum vulgare</i> vis-à-vis les quatre bactéries testées	45
Tableau 16 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines d' <i>Anethum graveolens</i> vis-à-vis les quatre bactéries testées	46
Tableau 17 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des fleurs d' <i>Anethum graveolens</i> vis-à-vis les quatre bactéries testées	47
Tableau 18 : Diamètres de la zone d'inhibition des extraits de <i>Foeniculum vulgare</i> et d' <i>Anethum graveolens</i> vis-à-vis à <i>Candida albicans</i>	48

Figure 1 : Un schéma représentant l'inflorescence caractéristique des Apiacées (Filliat 2012).....	5
Figure 2 : photo montrant les formes de graines de différentes espèces de la famille des ombellifères (Filliat 2012).....	6
Figure 3 : Répartition géographique mondiale des Apiaceae (lakhdar, 2011).....	7
Figure 4 : <i>Foeniculum vulgare</i> Mill : (a) dans son habitat naturel ; (b) tige ; (c) feuilles ; (d) inflorescences et fleurs ; (e) fruits;et (f) population de <i>F. vulgare</i> Mill.	10
Figure 5 : Aspect morphologique de la plante <i>Anethum graveolens</i>	14
Figure 6 : Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants	17
Figure 7 : Extraction par macération dans le méthanol aqueux	23
Figure 8 : Filtration des solutions	24
Figure 9 : Evaporation des extraits	24
Figure 10 : Les extraits bruts obtenus	25
Figure 11 : Dilution des extraits par le méthanol	26
Figure 12 Plaque du test DPPH.....	27
Figure 13 Plaque de test ABTS	28
Figure 14 Plaque du test de phénanthroline	29
Figure 15 Plaque du test FRAP	30
Figure 16 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	42
Figure 17 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines d' <i>Anethum graveolens</i>	43
Figure 18 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>	44
Figure 19 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait des graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	45
Figure 20 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines d' <i>Anethum graveolens</i>	46
Figure 21 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>	48
Figure 22 Zones d'inhibition de <i>Candida albicans</i> traitée par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>	49

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'homme a constamment cherché à satisfaire ses besoins en exploitant les ressources naturelles. La nature lui a fourni non seulement de quoi se nourrir et se vêtir, mais aussi des remèdes pour soigner ses maladies. Les plantes ont été utilisées pour leurs propriétés nutritives, textiles et médicinales, témoignant d'une connaissance approfondie et d'une relation étroite entre l'homme et son environnement.

Au fil des siècles, les traditions humaines ont méticuleusement développé une vaste connaissance et une utilisation approfondie des plantes médicinales. Ces savoirs ont été transmis et perfectionnés de génération en génération, visant non seulement à soulager la douleur, mais aussi à améliorer la santé et le bien-être global de l'humanité. Les remèdes à base de plantes ont été utilisés pour traiter diverses maladies, renforcer l'immunité et maintenir un équilibre physique et mental, démontrant une compréhension approfondie des propriétés curatives des plantes et une adaptation continue aux besoins sanitaires changeants

En outre, l'utilisation de médicaments synthétiques devient préoccupante en raison de leurs nombreux effets néfastes sur la santé. Par conséquent, l'étude des substances actives d'origine naturelle, moins toxiques, suscite un intérêt croissant parmi les scientifiques. Cette recherche permet de développer de nouveaux médicaments plus sûrs et efficaces

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population africaine recourt à la médecine traditionnelle et à la pharmacopée pour traiter leurs problèmes de santé. Cette pratique englobe l'utilisation de plantes médicinales et de remèdes naturels, jouant un rôle crucial, surtout dans les zones rurales où l'accès aux soins modernes est limité.

Les plantes contiennent des milliers de substances actives dans leurs différents organes (feuilles, fleurs, racines...). Grâce à des techniques chimiques comme l'extraction et la distillation, il est possible d'isoler ces principes actifs pour une utilisation en pharmacie. Souvent, ces remèdes naturels sont très efficaces et présentent moins d'effets secondaires que de nombreux médicaments de synthèse. Cependant, une mauvaise utilisation peut les rendre toxiques ou mortels.

Actuellement, face à la résistance croissante des microbes aux antibiotiques et à la toxicité des antioxydants synthétiques, les chercheurs se tournent vers les plantes médicinales et culinaires pour trouver des molécules naturelles efficaces et sans effets indésirables. De nombreuses études ont révélé que les plantes contiennent des métabolites secondaires, tels que les polyphénols, les alcaloïdes et les terpènes, dotés de puissantes activités biologiques

En Algérie, la phytothérapie est profondément enracinée dans la culture locale. Grâce à sa situation géographique et à sa diversité climatique, le pays possède une flore extrêmement riche et variée, comprenant des plantes méditerranéennes, sahariennes et paléotropicales. On y trouve plus de 3000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires appartenant à diverses familles botaniques (Bouasla and Bouasla ., 2017); (Gausson et al., 1982). Cependant, la flore médicinale algérienne demeure largement méconnue. Sur les quelques milliers d'espèces végétales présentes, seules 146 ont été identifiées comme ayant des propriétés médicinales (Baba Aissa F., 1999).

Dans le cadre de la recherche sur la valorisation de la biodiversité floristique algérienne, en particulier les plantes aromatiques et médicinales, nous avons entrepris une étude phytochimique du fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare*) et (*Anethum graveolens*). Cette étude vise à justifier scientifiquement l'utilisation traditionnelle de cette plante en médecine.

Le but de notre travail est d'étudier la Phytochimie de *Foeniculum vulgare* et *Anethum graveolens*. et leur activités biologiques (activité antioxydante, activité antibactérienne et activité antifongique).

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre 1 La famille des Apiacées

1.1. Historique

Les Apiaceae anciennement appelées Ombellifères, étaient déjà connues des anciennes civilisations chinoise et indienne du Mexique, ainsi que des Grecs et des Romains. Elles semblent être la première famille de plantes à fleurs reconnue en tant que telle par les botanistes vers la fin du XVIe siècle. Ce fut aussi le premier groupe de plantes faisant l'objet d'une étude systématique publiée par Robert Morison en 1672 (Heywood *et al.*, 1996).

1.2. Aspect botanique

La famille des Apiacées, également connue sous le nom de famille des Ombellifères, est un groupe diversifié de plantes qui comprend des herbes annuelles, bisannuelles et vivaces, ainsi que des arbustes, des arbres et des plantes grimpantes. Les tiges de ces plantes peuvent être creuses au niveau des nœuds, et les feuilles sont généralement alternes et divisées, avec une base engainante. Il est intéressant de noter que de nombreuses espèces de cette famille dégagent un arôme puissant lorsque leurs feuilles sont écrasées.

Les fleurs des Apiacées sont disposées en ombelles, c'est-à-dire en grappes de fleurs qui s'élèvent sur de longs pédicules pour former un sommet plat ou arrondi. Ces fleurs sont généralement petites et possèdent des parties qui portent du pollen ou des ovules. Elles sont actinomorphes, c'est-à-dire qu'elles présentent une symétrie radiale, avec cinq pétales, cinq petits sépales (parfois aucun) et cinq étamines, tous attachés au-dessus de l'ovaire. La couleur des pétales peut varier du blanc et du jaune au rose et au violet (Figure 01).

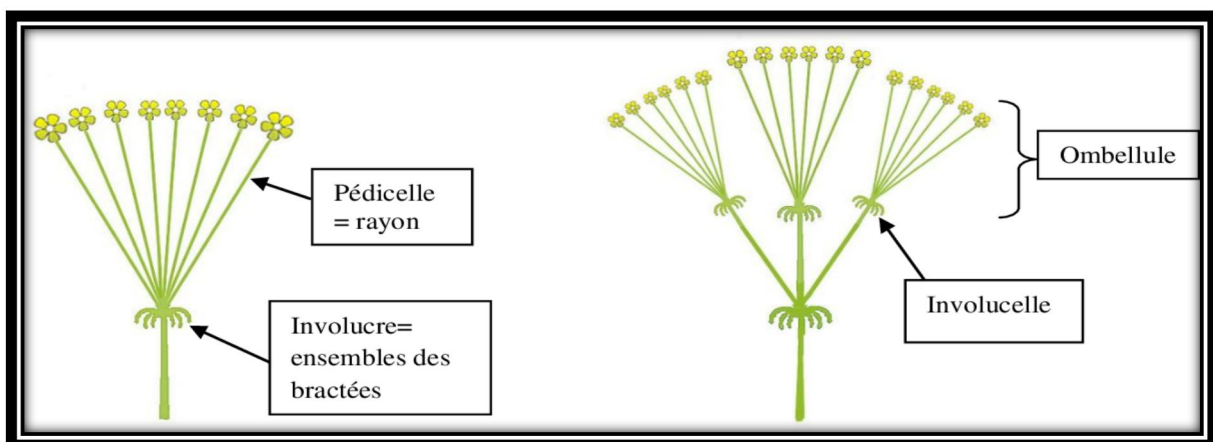


Figure 1 Un schéma représentant l'inflorescence caractéristique des Apiacées (Filliat 2012)

Le fruit de la plupart des membres de la famille des Apiacées est un schizocarpe, qui se sépare en deux morceaux ressemblant à des graines, tandis que d'autres ont un fruit charnu qui contient de deux à cinq graines. Il convient de noter que certaines espèces qui étaient auparavant classées dans la famille des Araliaceae sont désormais incluses dans la famille des Apiaceae.

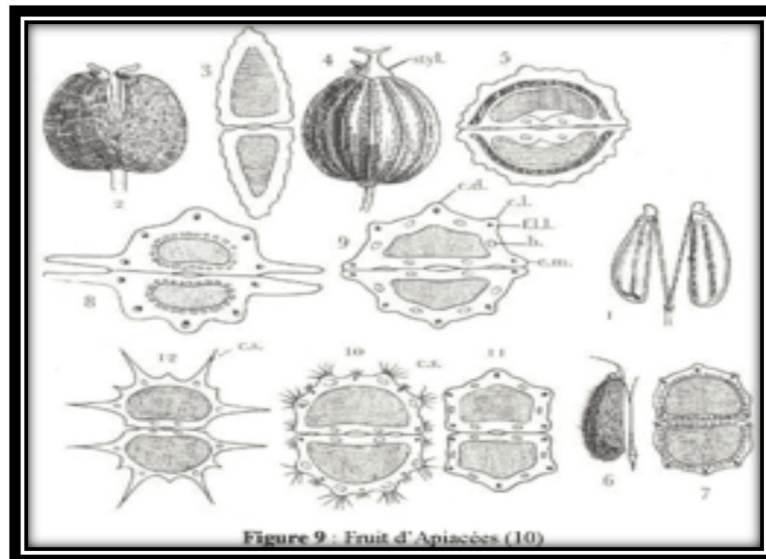


Figure 2 photo montrant les formes de graines de différentes espèces de la famille des ombellifères (Filliat 2012)

Dans l'ensemble, la famille des Apiacées est un groupe de plantes incroyablement diversifié qui comprend de nombreuses espèces aux caractéristiques et aux utilisations uniques. Certains membres de cette famille, comme les carottes, le céleri et le persil, sont couramment utilisés comme aliments, tandis que d'autres ont des propriétés médicinales ou sont cultivés pour leur valeur ornementale. Quel que soit leur usage, tous les membres de la famille des Apiacées sont des éléments fascinants et importants du monde végétal.

1.3. Classification de la famille des Apiacées

Selon la classification de Cronquist (1981), le système de localisation de la famille est le suivant

Règne : *Plantae*

Sous-règne : *Tracheobionta*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous-classe : *Rosidae*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiaceae (L.)*.

1.4. Distribution

Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères, comprennent environ 3000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées du monde (Tableau 01), mais surtout dans l'hémisphère Nord (Filliat, 2012) (Figure 03).

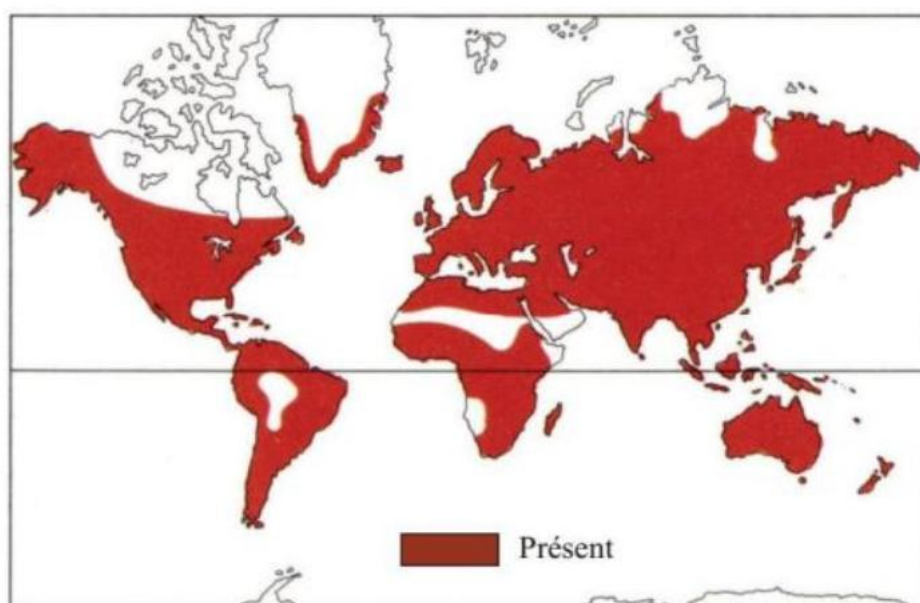


Figure 3 Répartition géographique mondiale des Apiaceae (Iakhdar, 2011).

Tableau 1 Répartition mondiale des genres des Apiaceae (Ebrahimzadeh et al., 2009).

Continent	Genres	Genres Endémiques
Afrique	126	50
Amérique	197	52
Asie	265	159
Australie	36	11
Europe	139	29

La famille des Apiacées occupe une importante place dans la flore algérienne car elle est représentée par 56 genres, 130 espèces (dont 24 endémiques) et 26 sous espèces (Quezel et Santa, 1963).

1.5. Utilisations traditionnelles

La famille des Apiacées (Apiaceae), anciennement Ombellifères (Umbelliferae), regroupe de nombreuses espèces de plantes dont certaines sont comestibles (carotte, fenouil...) et d'autres sont toxiques (ciguë) (Chahrazed ESSEID Epouse, 2018).

1.6. Activités biologiques et pharmacologiques

La médecine traditionnelle reconnaît à plusieurs espèces de la famille des Apiacées des vertus thérapeutiques certaines. Elles sont utilisées pour leurs activités anti-inflammatoires (Pellecuer et al., 1980 ; Kordali et al., 2008), antimicrobiennes (Koch et al., 2008 ; Monzote et al., 2007), antifongiques (Karbach et al., 2007 ; Isman, 2000), analgésiques (Hajhashemi et al., 2003), antibactériennes (Tung et al., 2008), anticonvulsivante (Silva et al., 2003 ; Menezes et al., 2007), antirhumatismale (Peana et al., 2006), antioxydante (Socorro et al., 2002), antitumorale (Sadraei et al., 2003 ; Jang et al., 2007), cytotoxique (Wang et al., 2008 ; Lopes-Lutz et al., 2008), et des propriétés chimiopréventives (Prieto et al., 2007), qui sont attribuées à différentes substances.

Chapitre 2 Activités biologiques de la *Foeniculum vulgare* et de l'*Anethum graveolens*

1. *Foeniculum vulgare*

1.1. Généralités

Foeniculum vulgare, connu sous le nom de fenouil commun, est une plante herbacée vivace, dressée et ramifiée (Figure 4(a)), dont le feuillage doux ressemble à des plumes et peut atteindre jusqu'à 2 mètres de hauteur. Sa ressemblance avec l'aneth est frappante. Cultivé principalement dans les potagers et les jardins d'herbes (Figure 4(f)), le fenouil est apprécié pour son feuillage et ses graines au goût d'anis, souvent récoltés pour être utilisés en cuisine. La plante présente une tige droite et cylindrique, d'un vert vif et lisse, avec de nombreuses feuilles ramifiées (Figure 4(c)) coupées en segments fins. Ces feuilles, pouvant mesurer jusqu'à 40 cm de long, sont finement découpées, leurs segments ultimes étant filiformes et mesurant environ 0,5 mm de large. Les fleurs, d'un jaune doré vif, s'épanouissent en juillet et août, formant de grandes ombelles terminales plates, comportant généralement de treize à vingt rayons. (Figure 4(d)).



(a)



(b)



(c)



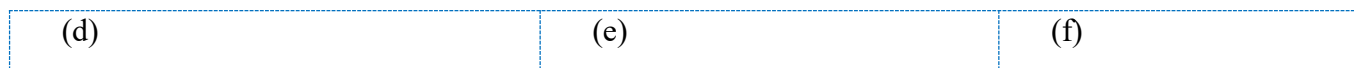


Figure 4 *Foeniculum vulgare* Mill : (a) dans son habitat naturel ; (b) tige ; (c) feuilles ; (d) inflorescences et fleurs ; (e) fruits;et (f) population de *F. vulgare* Mill.

1.2. Taxonomie et classification

Botaniquement parlant, *Foeniculum vulgare* Miller est l'espèce unique appartenant au genre *Foeniculum* (Tableau). Cette espèce se divise en deux sous-espèces : *Foeniculum vulgare subsp. piperitum* et *Foeniculum vulgare subsp. vulgare*. La sous-espèce *piperitum* est une plante vivace non cultivée caractérisée par des feuilles courtes et rigides lobées et des ombelles étroites qui produisent de petits fruits. Contrairement à la sous-espèce vulgare, elle ne dégage pas le parfum d'anis (Muckensturm et al., 1997 ; Napoli et al., 2010).

Tableau 2 Classification taxonomique de *Foeniculum vulgare* (Abou El-Soud et al., 2011)

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae (Umbelliferae)
Genre	<i>Foeniculum</i>
Espèces	<i>Foeniculum vulgare</i>
Nom binomial	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller

1.3. Habitat et répartition géographique

Le fenouil commun (*Foeniculum vulgare*) a ses origines dans l'Ancien Monde, probablement en Méditerranée, où il était déjà utilisé par les civilisations anciennes telles que les Égyptiens, les Grecs et les Romains. Cependant, il s'est largement répandu et naturalisé à travers le monde. Actuellement, il est considéré comme une espèce introduite dans de nombreuses régions, notamment en Amérique du Nord, en Amérique centrale, en Amérique du Sud et dans les îles des Caraïbes (Liogier and Martorell, 2000; Hanelt et al., 2001; Wyk, 2005; Elzebroek and Wind, 2008).

Il existe deux types de fenouils cultivés pour leurs graines : le fenouil doux et le fenouil amer. Le fenouil doux, qui n'existe pas à l'état sauvage, est principalement cultivé en Bulgarie, en France, en Italie et en Macédoine. Quant au fenouil amer, il est cultivé dans

divers pays tels que l'Inde, l'Argentine, la République tchèque, la France, l'Allemagne, la Hongrie, l'Italie, le Japon, la Roumanie et le sud de la Russie. Le fenouil indien offre une saveur anisée douce, tandis que le fenouil persan présente une saveur anisée plus prononcée (Ravindran, 2016).

1.4.Utilisation thérapeutique du fenouil

Le fenouil (*Foeniculum vulgare*) a joué un rôle important dans la médecine traditionnelle, étant utilisé pour traiter une variété de troubles. Il est employé dans divers systèmes de médecine traditionnelle, notamment l'Ayurveda, l'Unani, le Siddha, ainsi que dans les systèmes de médecine traditionnelle indienne et iranienne (Rahimi R et *al.*, 2013).

1.4.1. Usage traditionnelle

Les différentes parties de *Foeniculum vulgare*, y compris la tige, les fruits, les feuilles, les graines et la plante entière, sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies. Leurs utilisations et préparations sont bien documentées dans la littérature ethnobotanique (Ghorbani A et *al.*,2005).

Le fenouil est utilisé pour traiter une gamme variée de troubles, allant des affections simples telles que la toux, le rhume et les coupures, à des maladies plus complexes comme les affections rénales et le cancer.

De plus, il trouve également des applications étendues en médecine vétérinaire (Cornara L et *al.*, 2009).

Foeniculum vulgare est largement utilisé dans le monde pour traiter diverses maladies. Ses usages comprennent le soulagement des douleurs abdominales, l'antiémétique et l'appétitif, le traitement de l'arthrite, du cancer, des coliques chez les enfants, de la conjonctivite, de la constipation, et il agit également comme agent dépuratif, antidarrhéique, diurétique et emménagogue.

Il est aussi utilisé pour la fièvre, les flatulences, la gastralgie, la gastrite, l'insomnie, le syndrome du côlon irritable, les affections rénales, comme laxatif, pour la leucorrhée, les douleurs hépatiques, les aphtes et les maux d'estomac.

1.4.2. Utilisation en pharmacologie

Foeniculum vulgare Mill. Possède diverses activités pharmacologiques reconnues dans la médecine traditionnelle iranienne et la phytothérapie moderne. Ces activités comprennent des effets antioxydants, cytotoxiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens, bronchodilatateurs, oestrogéniques, diurétiques, lithonriptiques, galactogènes, emménagogues, antithrombotiques, hypotenseurs, gastroprotecteurs, hépatoprotecteurs et améliorant la mémoire, ainsi que des

activités antimutagènes. Aucun effet indésirable grave n'a été signalé après l'ingestion de *Foeniculum vulgare*, à l'exception de quelques cas de réactions allergiques (RAHIMI R et al., 2013).

1.5. Phytochimie de *Foeniculum vulgare*

La composition des composés volatils présents dans l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* est diversifiée. C'est cette composition qui confère à *F. vulgare* son odeur caractéristique d'anis. Elle est largement utilisée comme agent aromatisant dans une variété de produits alimentaires en raison de sa saveur excellente. L'huile essentielle de fenouil contient plus de 87 composés volatils (Akgül A et al, 1988). et ces composés peuvent être trouvés dans toutes les parties de la plante, y compris les racines, la tige, les pousses, les fleurs et les fruits (Díaz-Maroto MC et al., 2006).

Les principaux composants d'huiles essentielles des fruits de *F. vulgare* sont trans- anethole, estragol, fenchone, et α phellandrène (Senatore, et al., 2013). Il renferme également de l'alcool anisique, de l'anisaldéhyde ainsi que des monoterpènes (1 à 5%): (R)-limonène, α pinène, camphre, p-cymène, myrcène, α - et β -phellandrènes, sabinène, γ -terpinène, cis- β cymène et terpinolène (Paloma, 2012).

2. *Anethum graveolens* (aneth)

2.1. Généralités

L'aneth, également connu sous le nom d'*Anethum graveolens*, tire ses origines de la région méditerranéenne et de l'Asie occidentale. Son nom est dérivé du grec "anethon" et du nordique "dylla" ou "dilla", probablement en référence à son pouvoir apaisant (Chahal KK et al., 2017).

L'aneth atteint une hauteur de 50 à 150 cm (selon la variété), avec des tiges fines, bleu-vert à vert foncé, souvent avec des entre-nœuds creux, alternés en trois ou quatre sections, souvent plus larges que celles du fenouil, ovale rectangulaire. 20 à 40 cm de long et 10 à 20 cm de large, filiformes aux extrémités, et racines fusiformes, longues de 10 à 15 cm. Ses feuilles sont couvertes et alternes. La tige principale est cylindrique, brillante, ramifiée bilatéralement à cinq à huit branches portant des feuilles triangulaires et décomposées. Ses fleurs sont présentes en parapluies d'un diamètre de 15 cm remplis de fleurs aux pétales jaunes. Les fleurs sont bisexuées ($2n = 22$), il possède des graines irrégulières, mais plutôt des moitiés de fruits secs appelés schizocarpes. Les fruits de l'aneth sont ovales compacts, leurs

ailes mesurent environ 10 mm de large séparés en deux méricarpes (Tableau 3) . Graines petites, plates et légères, plus longues que celles du cumin.(S. Jana, G. S. Shekhawat ,2014)(TIFOURI BENZINA Z., 2021) (Boulogne I et al ., 2014) (Figure 5).

Tableau 3 Caractéristiques de l'*Anethum graveolens*

Partie de la plante	Caractéristiques	Description
Racine	Système racinaire pivotant	Les racines de l'aneth sont pivotantes, s'enfonçant profondément dans le sol pour soutenir la plante et absorber les nutriments.
Tige	Fine, creuse et ramifiée	Les tiges de l'aneth sont fines, creuses et souvent ramifiées, leur permettant de supporter les feuilles et les fleurs de la plante.
Feuilles	Filiformes et plumeuses	Les feuilles de l'aneth sont filiformes, divisées en segments fins et plumeux, ressemblant à des plumes d'oiseaux. Elles sont souvent vert clair à vert foncé.
Fleurs	Petites fleurs jaunes en ombelles	Les fleurs de l'aneth sont petites, jaunes et regroupées en ombelles, formant une structure similaire à un parapluie. Elles ont une odeur douce et légèrement anisée.
Graines	Petites graines ovales	Les graines d'aneth sont petites, ovales et légères. Elles ont une couleur brun clair à brun foncé et dégagent un arôme distinctement anisé.
Fruits	Schizocarpes	Les fruits de l'aneth sont des schizocarpes, ce qui signifie qu'ils se divisent en deux moitiés lorsqu'ils mûrissent, libérant les graines à l'intérieur.



A. LA FLEUR (113)



B. LA PARIE AERIENNE (113)



C. CAITULE (113)



D. LA FEUILLE (113)

Figure 5 Aspect morphologique de la plante *Anethum graveolens*

2.2. Taxonomie et classification

Le genre végétal *Anethum* L. de la famille des *Apiaceae*, sous-famille des *Apioideae*, tribu des *Apiaceae* ne compte que quelques espèces, dont une largement répandue dans le monde : l'aneth odorant (*Anethum graveolens*) (Tableau 4).

Tableau 4 Classification taxonomique d'*Anethum graveolens*

Aneth	
Règne	Plantae
Division	Angiosperme
Classe	Dicotylédone
Ordre	Apiale (ombellale)
Famille	Apiaceae
Genre	Anethum
Espèce	Anethum graveolens

2.3. Distribution géographique de l'*Anethum graveolens*

Anethum graveolens L. (aneth) est une espèce originaire de l'Asie du Sud-Ouest ou de l'Europe du Sud-Est. Il est originaire de la Méditerranée, de l'URSS méridionale et de l'Asie du Sud. L'*Anethum* est utilisé comme condiment et aussi comme plante médicinale depuis l'époque égyptienne (Jana.S et Shekhawat .GC., 2010).

2.4. Utilisation thérapeutique de l'*Anethum graveolens*

2.4.1. Usage traditionnelle

L'aneth, une herbe aromatique largement appréciée à travers le monde, trouve sa place dans la cuisine et la médecine traditionnelles. Dans la cuisine, chaque partie de la plante est utilisée de manière caractéristique : Les feuilles d'aneth, qu'elles soient fraîches ou séchées, sont couramment employées comme aromate dans une variété de plats tels que les sauces, les salades, les soupes et les plats à base de poisson. Elles sont également utilisées comme garniture décorative, ajoutant une touche visuelle et une saveur fraîche aux plats. Les graines d'aneth, plus intenses en saveur que les feuilles, sont utilisées comme épice dans les marinades, les sauces, les plats de viande et de poisson, ainsi que dans la fabrication de pains et de biscuits. Leur parfum distinctif et leur goût légèrement anisé sont appréciés pour rehausser le profil aromatique des plats. Bien que moins répandues, les racines d'aneth peuvent également être utilisées en cuisine. Elles sont souvent utilisées pour préparer des bouillons ou des infusions, ajoutant une subtile note anisée aux plats cuisinés (BRINSI C et *al.*, 2022).

2.4.2. Utilisation en pharmacologie

L'aneth est une herbe remarquablement polyvalente, réputée pour ses multiples bienfaits sur la santé. En infusion, elle agit comme un stimulant efficace du système digestif, grâce à ses propriétés stomachiques, digestives, apéritives, carminatives, antispasmodiques et diurétiques. Cette plante est également appréciée pour ses vertus anti-inflammatoires, calmantes et préparant au sommeil, ce qui en fait un remède naturel complet pour de nombreux maux. Les graines d'aneth, lorsqu'infusées, sont particulièrement efficaces pour soulager le hoquet, les maux de tête et la toux chez les enfants.

Elles sont également utilisées pour traiter une variété d'autres affections, notamment la dyspepsie, les vomissements d'origine nerveuse, les flatulences, l'insuffisance hépatobiliaire et les gaz intestinaux. Dans l'histoire, l'aneth a été employé à diverses fins, notamment pour traiter l'épilepsie et favoriser la lactation, comme le pratiquaient les Grecs anciens. Il a également été utilisé par Charlemagne pour calmer les convives ayant trop bu lors de banquets. De plus, les sorcières et les mages du Moyen Âge reconnaissaient ses vertus aphrodisiaques et l'utilisaient pour conjurer les mauvais sorts. Enfin, ses qualités stimulantes sont également associées à une amélioration des capacités cérébrales (KK Chahal et *al.*, 2017) (Singh S et *al.*, 2020).

2.5. Phytochimie d' *Anethum graveolens*

Les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles d'aneth sont riches en hydrocarbures monoterpéniques, tandis que celles issues des fleurs ne contiennent que de l'alpha-phellandrène et du limonène. Le carvone est le principal composant caractérisant l'huile extraite des graines. Des analyses chimiques ont permis d'identifier près de 35 composants, représentant près de 98,9 % de la composition totale. Le carvone est l'élément majeur, constituant 55,2 %, suivi du limonène (16,6 %), du dill apiol (14,4 %) et du linalool (3,7 %). Les huiles essentielles de l'aneth sont largement utilisées dans diverses applications industrielles. Elles jouent un rôle significatif en tant que protecteurs de la muqueuse gastrique chez la souris (Assadi et Romdhane, 2014).

3. Les activités biologiques

3.1. Activity anti oxydante

L'activité antioxydante, définie comme la capacité d'un composé à résister à l'oxydation, est étudiée dans divers domaines, notamment l'extraction, l'identification et la quantification à partir de substances naturelles telles que les plantes médicinales et les produits agroalimentaires. Les antioxydants les plus couramment étudiés comprennent le β -carotène, l'acide ascorbique, le tocophérol et les composés phénoliques. Ces composés, qu'ils soient synthétiques ou naturels, possèdent souvent des groupes hydroxyphénoliques dans leur structure, leur permettant de piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles et superoxydes. Pour évaluer cette activité, diverses méthodes *in vitro* et *in vivo* sont utilisées, telles que les méthodes ORAC, TRAP, FRAP, l'utilisation des radicaux ABTS et DPPH. En raison de la complexité des processus d'oxydation et de la diversité des antioxydants, aucune méthode universelle ne permet une mesure précise de leur activité antioxydante. Il est souvent nécessaire de combiner différentes méthodes pour obtenir une indication fiable de la capacité antioxydante d'un échantillon (Popvici, C et *al.*, 2009).

❖ Stress oxydant

Des molécules pro oxydantes, appelées radicaux libres ou espèces réactives de l'oxygène (ERO), sont produites quotidiennement dans l'organisme. Normalement, elles sont contrôlées par les antioxydants. Toutefois, un stress oxydatif peut survenir lorsque l'équilibre entre les radicaux libres et les antioxydants est rompu en faveur des radicaux libres.

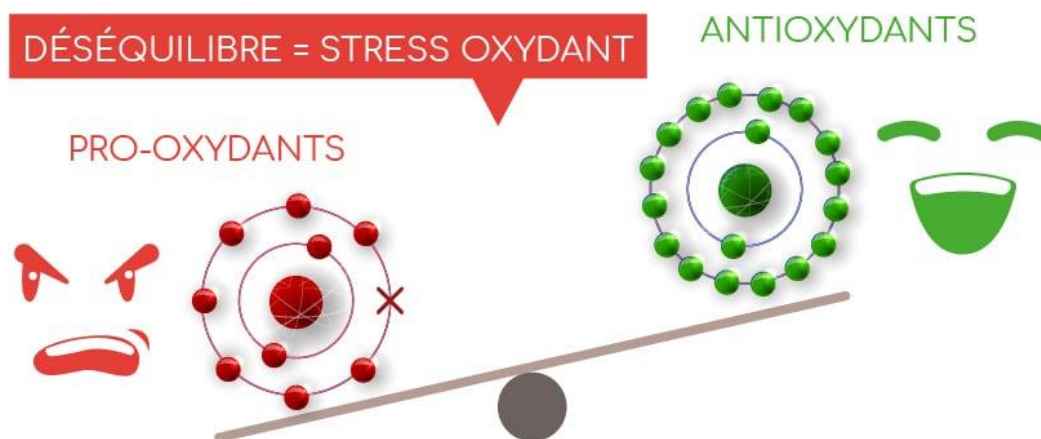


Figure 6 Déséquilibre de la balance entre antioxydants et pro-oxydants

Un excès de production de ces molécules réactives ou une insuffisance des mécanismes antioxydants peut perturber cet équilibre. Ce déséquilibre peut être causé par divers facteurs, tels que l'exposition aux radiations ionisantes (comme une forte exposition au soleil ou à la radioactivité artificielle ou naturelle), la pollution, le contact avec certains pesticides et solvants, la consommation de tabac et d'alcool, la prise de certains médicaments, la pratique intensive du sport, et tout processus susceptible de surcharger les réactions de détoxification hépatique, notamment une perte de poids importante.

❖ Définition d'un radical libre

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules possédant un électron non apparié, ce qui les rend très instables et réactifs. Pour atteindre la stabilité, ces molécules réagissent rapidement avec d'autres composants, tentant de capturer l'électron manquant. Ce processus initie une réaction en chaîne : lorsqu'un radical libre attaque une molécule stable en lui arrachant un électron, la molécule attaquée devient elle-même un radical libre

3.1.1. Activité anti-radicalaire au DPPH

Le test au radical libre DPPH est une méthode recommandée du point de vue méthodologique pour évaluer les composés contenant des groupes SH-, NH- et OH-. Ce test est réalisé à température ambiante afin de prévenir toute dégradation thermique des molécules thermolabiles. Il est couramment utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des extraits hydrophiles provenant de sources telles que le thé vert, les jus de fruits, ainsi que les raisins, leurs pépins et pulpes, qui sont connus pour être riches en composés phénoliques (Popvici, C et *al.*, 2009).

3.1.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS \cdot^+

Le test ABTS, également connu sous le nom de test radicalaire, est utilisé pour évaluer les activités antioxydantes des composants alimentaires et des boissons. Il repose sur l'activation de la metmyoglobine par peroxyde d'hydrogène en présence d'ABTS. Dans sa version améliorée, un cation radical ABTS stable est obtenu en oxydant l'ABTS avec du persulfate de potassium avant d'ajouter des antioxydants. La décoloration de l'ABTS, mesurée par la réduction du cation radical en pourcentage d'inhibition d'absorbance à 734 nm, permet d'évaluer l'activité antioxydante. Les résultats sont exprimés en termes de capacité antioxydante équivalente (TEAC) en comparant l'absorbance du mélange ABTS-antioxydant

à celle du standard Trolox (Joon-Kwan Moon et Takayuki Shibamoto., 2009). L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et *al.* (1999)

3.1.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺- phénanthroline

La méthode à phénanthroline est un test qui repose sur la capacité du 1,10-phénanthroline à réagir avec le fer ferreux (Fe²⁺) obtenu par la réduction des ions de fer ferrique (Fe³⁺) présents dans le milieu réactionnel en présence d'antioxydants. Formé le complexe orange.

La longueur d'onde d'absorption varie de 400 à 800 nm (SRIEF M., 2023).

Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺ -(phénanthroline) L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka.

3.1.4. Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Le test FRAP a été développé par Benzie et Strain (1996) pour mesurer le pouvoir réducteur ferrique du plasma humain. Pulido, Bravo et Saura-Calixto (2000) ont adapté cette méthode pour quantifier le pouvoir antioxydant ferrique réducteur des extraits de plantes. Dragsted et coll. (2004) ont utilisé le test FRAP dans un lecteur de plaque de microtitrage dans un format à 96 puits. Dans FRAP, la réaction de test implique la réduction de Fe³⁺ - TPTZ (fer [III]-2,4,6-tripyridyl -S- triazine) en Fe²⁺ -TPTZ via SET avec un composé antioxydant. Le résultat de cette réaction est une couleur bleue intense :



-Activité du pouvoir antioxydant réducteur ferrique (FRAP) L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986)

Préparation des réactifs

- Ferricyanure de potassium K₃Fe (CN)₆ (0.1%) : 1g de K₃Fe (CN)₆ est dissout dans 100 mL H₂O

-Acide trichloroacétique (TCA) (10%) :1 g de TCA est solubilisé dans 10 mL H₂O
Chlorure. Ferrique FeCl₃ (0.1%) : solubiliser 0,1 g de FeCl₃ dans 100 mL H₂O.

3.2. Activité antibactérienne

L'activité antibiotique désigne la capacité d'une molécule ou d'un composé présent dans une plante à inhiber la croissance ou à tuer des bactéries à des concentrations très faibles.

La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique peut varier en fonction de la nature spécifique de cet antibiotique. De plus, différentes souches bactériennes peuvent présenter des niveaux de sensibilité variables à un même antibiotique (Daniel et Nicolas, 1998. ABIDI K et NAHAL G, 2016).

❖ Définition et types d'antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes, capables d'inhiber la croissance ou le développement d'autres micro-organismes, notamment des bactéries. Ils perturbent le métabolisme des bactéries ou agissent spécifiquement sur une étape essentielle de celui-ci, tout en étant non toxiques pour les cellules humaines ou animales. Initialement, les antibiotiques étaient exclusivement des substances d'origine biologique produites par des champignons. Cependant, leur cadre s'est élargi pour inclure des produits possédant la même action antibactérienne mais obtenus par synthèse.

❖ Les différents types d'antibiotiques

Les antibiotiques se répartissent en plusieurs catégories selon leur origine. La majorité des antibiotiques proviennent de sources naturelles et de leurs dérivés. Ils peuvent également être synthétiques ou semi-synthétiques. Les antibiotiques synthétiques sont créés à partir de dérivés totalement artificiels ou en recréant des substances initialement extraites de micro-organismes. Les antibiotiques semi-synthétiques, quant à eux, résultent de la modification en laboratoire de substances produites par des micro-organismes.

3.3.L'activité antifongique

Les antifongiques sont des substances (naturelles) capables de tuer sélectivement ou non divers champignons rencontrés en mycologie. Ils sont administrés localement ou systématiquement. L'activité antifongique dépend aussi de la concentration en facteurs fongiques, de la durée d'exposition à l'agent antifongique, du pH du milieu et de la température ambiante (Meena et Sethi, 1994 . Sabouni C et Bouafia S., 2023).

Matériel et méthodes

1. Matériel Végétal

1.1.Préparation du matériel végétal

Notre étude a été réalisée sur les graines de *Foeniculum vulgare*; les graines et les fleurs de *Anethum graveolens* .

- Les graines de fenouil (*Foeniculum vulgare*) et les graines d'aneth (*Anethum graveolens*), fournis par un herboriste à Mila. D'après le fournisseur, ces graines ont été récoltées à Mila, A la fin d'été de l'année 2023.

- La récolte des fleurs de *Anethum graveolens* a été effectuée dans la région de Zeghaia (wilaya de Mila). La collecte a été réalisée dans leurs habitats naturels au mois de Mars 2024

Pour faciliter l'extraction des composés phénoliques à partir des fleurs d'*Anethum graveolens* deux opérations de prétraitement de ces matériels ont été effectuées : séchage et broyage

- Séchage : Le séchage des fleurs est effectué à l'ombre, à l'abri de l'humidité durant trois semaines (21 jours) et à une température ambiante.
- Broyage : Les graines et les fleurs séchées sont ensuite broyées à l'aide d'un moulin à café jusqu'à obtenir une poudre fine. Ces poudres ont été conservées dans des bouteilles en verre scellées et exclue de la lumière et de la chaleur jusqu'à son utilisation

1.2.Extraction des composés phénoliques

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'activité microbienne université Mentouri Constantine. Les composés phénoliques ont été extraits à partir des graines de *Foeniculum vulgare* et des graines et des fleurs d'*Anethum graveolens* .

➤ Principe

L'étape d'extraction est considéré comme une étape primordiale d'analyse et d'identification des molécules bioactives. L'extraction de produits naturels est généralement de type solide-liquide. Des méthodes dites traditionnelles, comme la macération, la décoction

étaient jusqu'ici utilisées et considérées comme techniques de choix pour extraire les composés naturels (Mendiola, 2007).

Dans notre étude, nous avons utilisé une méthode d'extraction qui est : L'Extraction par macération dans le méthanol aqueux.

➤ Extraction par macération

La macération est l'opération la plus simple qui consiste à laisser séjourner le broyat dans le méthanol aqueux pour extraire les composés phénoliques (Llaneza *et al.*, 2009).

Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par (Adil *et al.*, 2012), avec quelques modifications. 30 g de la poudre obtenue sont macérés dans un mélange hydroalcoolique (300 ml de méthanol) dans un Erlenmeyer entièrement enveloppé d'une feuille d'aluminium, ce qui élimine toute interférence lumineuse pouvant altérer le processus. Le mélange est ensuite placé sur un agitateur pendant 48 heures à température ambiante, permettant ainsi au méthanol de dissoudre efficacement les composés souhaités des échantillons (Figure 06).

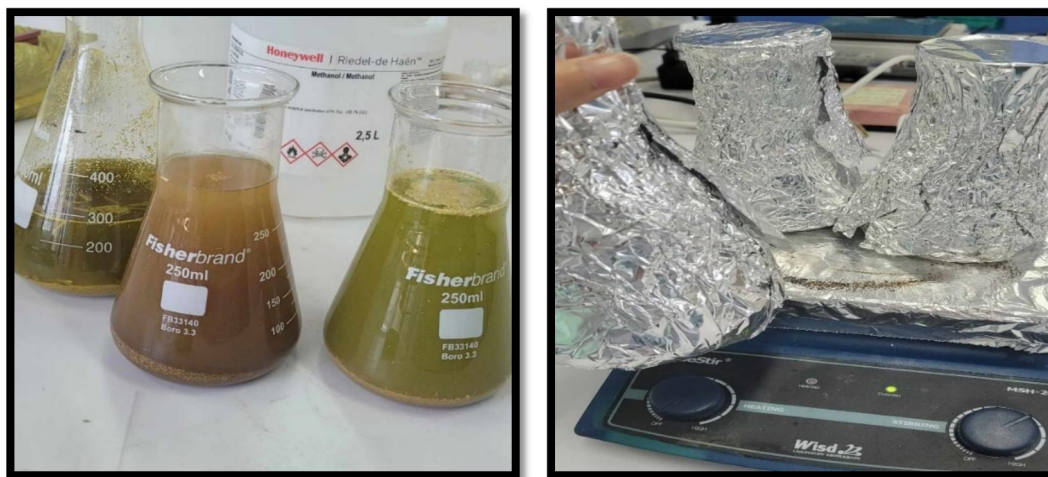


Figure 7 Extraction par macération dans le méthanol aqueux

➤ Filtration

Une fois la macération terminée, les solutions sont filtrées pour éliminer les particules solides provenant des fleurs et des graines d'aneth ainsi que des graines de

fenouil. Cela permet d'obtenir une solution contenant les composés dissous dans le méthanol (Figure 07)



Figure 8 Filtration des solutions

➤ Évaporation du méthanol

Les filtrats obtenus sont évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif "BÜCHI" à une température comprise entre 35 et 40 °C. Ce procédé permet d'éliminer le solvant résiduel, à savoir le méthanol, tout en préservant les huiles essentielles extraites. L'évaporateur rotatif chauffe délicatement la solution en circulation, favorisant ainsi l'évaporation sélective du méthanol tout en conservant les précieuses composés bioactifs. (Figure 08)

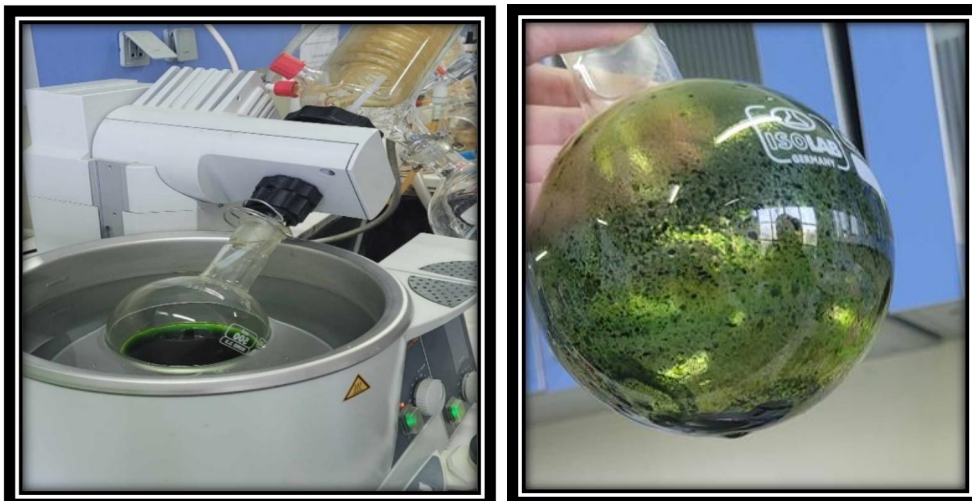


Figure 9 Evaporation des extraits

Une fois le processus d'évaporation du méthanol terminé, nous avons obtenu des composés bioactifs, extraites des fleurs et des graines d'aneth ainsi que des graines de fenouil. Les extraits des plantes sont conservés dans des tubes en verre (Figure 09) , hermétiquement fermés et enveloppés dans du papier d'aluminium maintenu à une température de 4 °C pour maintenir intacte l'activité biologique des huiles et les protéger des variations de l'air, de la lumière et de la température, car ces facteurs sont la principale raison de leur modification.



Figure 10 Les extraits bruts obtenus

1.3.Calcul du rendement des extractions (Rdt%)

La production rentable d'extraits est le rapport entre la masse de matière sèche de l'extrait obtenu et la masse de matière sèche de plante utilisée, il est calculé par la formule donnée par Falleh *et al* (2008).

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{M_{\text{extrait}}}{M_{\text{échantillon}}} \times 100$$

Avec : M extrait = Masse de l'extrait en gramme. M échantillon= Masse de l'échantillon (végétal) en gramme.

2. Activités biologiques

Note étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de biochimie au centre de recherche en biotechnologie (CRBT) Constantine.

2.1.Préparation des dilutions des extraits

Les échantillons à tester sont des extraits végétaux d'Aneth (fleurs et graines) et de Fenouil (graines), où 0,004 g de l'extrait est dissous dans 100 ml de solvant méthanoïque pour obtenir la concentration souhaitée. Après avoir dilué chaque extrait huit fois (en prenant 500 ml de solution mère et en l'ajoutant à 500 ml de méthanol dans un Eppendorf) (Figure 10).

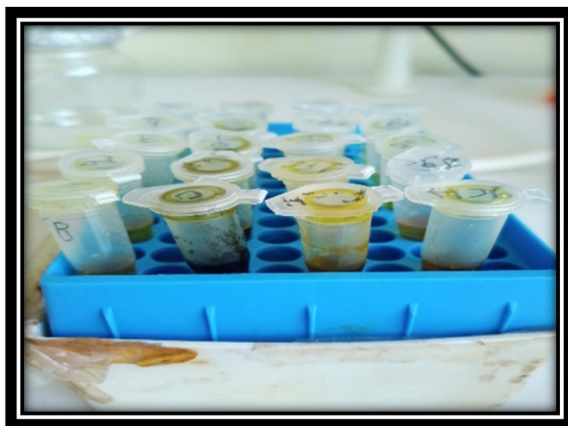


Figure 11 Dilution des extraits par le méthanol

2.2. Test du pouvoir antioxydant

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro de nos extraits des composés phénoliques a été réalisée par quatre techniques chimiques à savoir ; Le test au radical libre DPPH ; le piégeage du pouvoir réducteur FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) ; Le piégeage du cation radical ABTS et la méthode à phenanthroline.

2.2.1. La méthode au DPPH (diphénylpicrylhydrazyl)

4 mg de chaque extrait (fleurs et graines d'aneth et graines de fenouil) ont été dissous dans 1 ml d'usolvant (MeOH) dans un tube Eppendorf.

La solution obtenue à partir de chaque extrait est homogénéisée par agitation avec un appareil à ultrasons.

Des plaques de dilution (1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64) ont été préparées à partir de solutions mères à 0,004 mg/mL dans du méthanol. 40 μ L de chaque dilution dans une plaque de 96 puits ont été ajoutés aux puits, auxquels ont été ajoutés 160 μ L de DPPH.

Une solution de DPPH à 0,004 % (0,004 g dans 100 mL de MeOH) a été pré-préparée dans un flacon recouvert d'une feuille d'aluminium jusqu'à son utilisation. Parallèlement, un contrôle négatif est préparé en mélangeant 40 μ L de méthanol et 160 μ L de solution DPPH dans la dernière colonne de la plaque.

Ensuite une absorbance du mélange à 517 nm a été mesurée à l'aide d'un lecteur de microplaques (Figure 11).

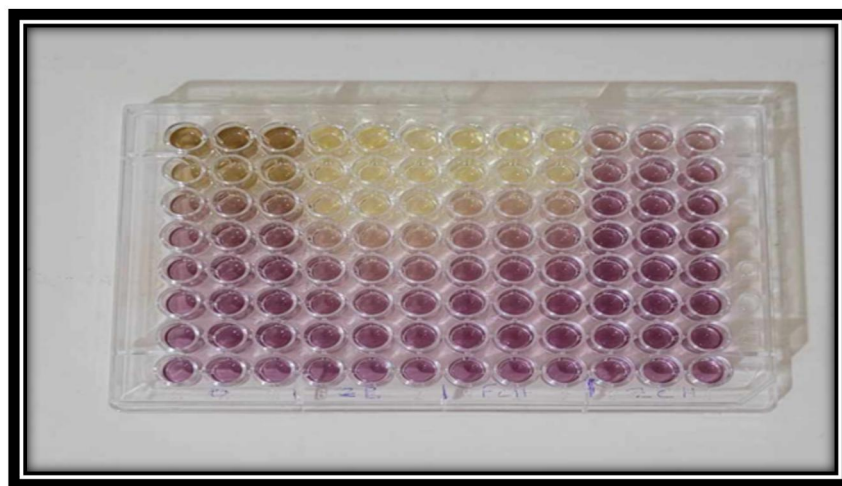


Figure 12 Plaque du test DPPH

Une lecture des résultats après incubation pendant 30 min à une température ambiante dans l'obscurité.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = (\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}) \times 100$$

Abs contrôle : absorbance du contrôle ou du témoin négatif à 517 nm.

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon à 517 nm.

2.2.2. Activité du piégeage du cation radical ABTS

Selon la procédure décrite par Re *et al.*, (1999). Nous avons procédé à la préparation de la microplaque à 96 puits. Dans chaque puits de la plaque, 40 µl d'échantillon ont été ajoutés. Ensuite, 160 µL de la solution ABTS préalablement préparée ont été ajoutés dans chaque puits contenant l'échantillon et le processus a été répété pour chaque dilution dans trois puits. Un soin particulier a été apporté lors du mélange pour garantir l'homogénéité du contenu. Nous avons laissé la dernière ligne de la plaque dans laquelle seulement 40 µL de méthénol et 160 µL de ABTS ont été placés pour le contrôle.

La microplaque à 96 puits a été ensuite placée dans un environnement à une température ambiante, à l'abri de la lumière, et incubée pendant 10 minutes. Cette période d'incubation permet une réaction entre le ABTS et les composés présents dans les échantillons (Figure12).

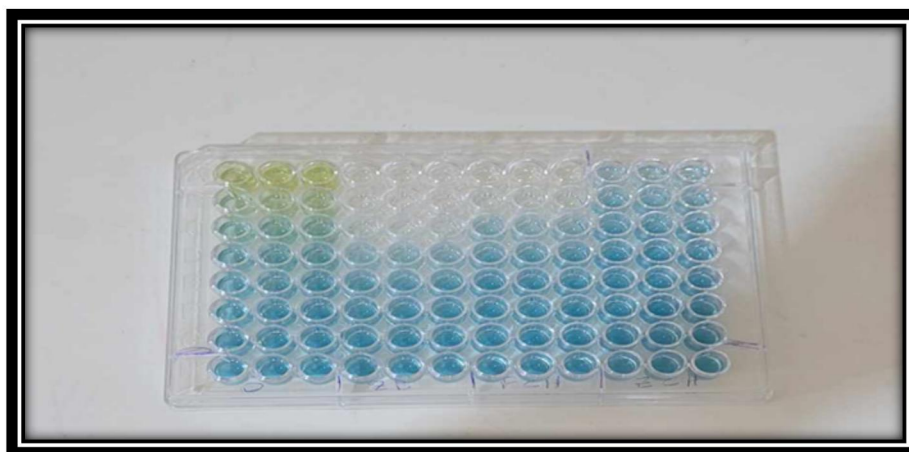


Figure 13 Plaque de test ABTS

Après incubation, l'absorbance de chaque puits a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, utilisant une longueur d'onde de 734 nm. Cette mesure permet d'évaluer l'activité antioxydante des échantillons.

2.2.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺- phénanthroline

Activité de réduction par la formation du complexe Fe²⁺ -(phénanthroline) L'activité de phénanthroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka.

• Préparation des solutions réactionnelles :

- Le phénanthroline (0.5 %) : dissoudre 0.05g de Phenanthroline dans 10mL de (MeOH)
- La solution du chlorure ferrique (FeCl₃) (0.2%) : dissoudre 0.02g de FeCl₃ dans 10mL de (H₂O).

Sur une microplaque à 96 puits, 10µL de l'extrait préparé à plusieurs concentrations (une masse de 4mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1ml de méthanol) a été mélangé avec une solution de 50 µL de chlorure Ferrique FeCl₃ (0,2%), 30 µL de phénanthroline (0.5%) et 110µL de méthanol. L'absorbance du mélange a été mesurée à 510 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant la solution de l'échantillon par le solvant utilisé (Méthanol). Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme standards (Figure 13).

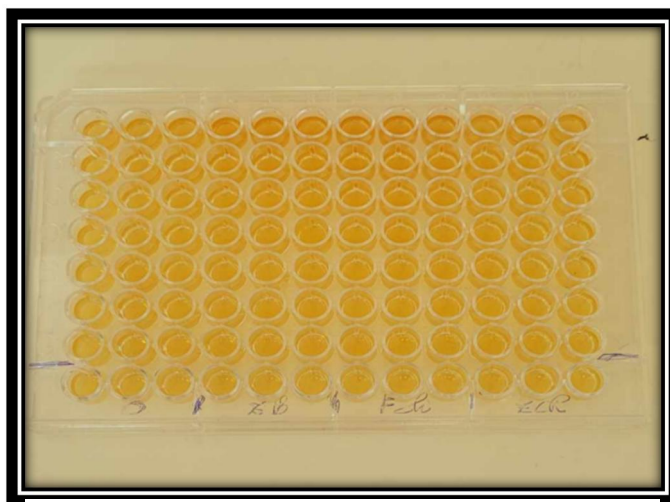


Figure 14 Plaque du test de phénanthroline

2.2.4. Activité du

pouvoir réducteur (FRAP)

L'activité du pouvoir réducteur est déterminée par la méthode d'Oyaizu (1986)

- **Préparation des réactifs**

- Ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ (0.1%) : 1g de $K_3Fe(CN)_6$ est dissout dans 100 mL H_2O
- Acide trichloroacétique (TCA) (10%) : 1 g de TCA est solubilisé dans 10 mL H_2O
- Chlorure. Ferrique $FeCl_3$ (0.1%) : solubiliser 0,1 g de $FeCl_3$ dans 100 mL H_2O .

Sur une microplaque à 96 puits 10 μL d'échantillon dilué dans une solution de méthanol à des concentrations différentes ont été ajoutés à 40 μL du tampon phosphate buffer (0,2M, pH=6.6) et à 50 μL de $K_3Fe(CN)_6$ (1%). Le mélange est incubé à une température de 50°C dans une étuve pendant 20 min. par la suite 90 μL d'eau distillée et 10 μL $FeCl_3$ (0.1%) ont été additionnés. L'absorbance a été mesurée à 700 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le Méthanol. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons (Figure 14).

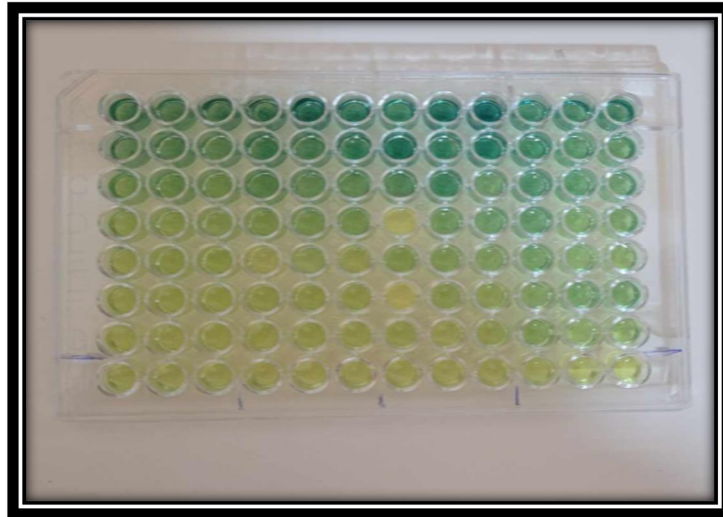


Figure 15 Plaque du test FRAP

La valeur EC50 est la concentration de l'échantillon qui correspond à une absorbance égale à 0,5 et calculée à partir du graphe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

2.3. Test du pouvoir antibactérien

Les tests d'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisé au niveau du laboratoire de mycologie, de biotechnologie et de l'activité antimicrobienne université mentouri Constantine. Ce test nécessite un travail dans des conditions d'asepsie rigoureuses afin d'éviter les problèmes de contamination. En outre, le matériel, les solutions et les milieux de cultures doivent être stérilisés par autoclavage.

2.3.1. Bactéries test

Cinq souches bactériennes de références (ATCC) ont été testées : *Escherichia coli* , *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* ,*Salmonella typhimurium* et *Bacillus speizini*.

Les caractéristiques des souches sont citées dans le tableau 05

Tableau 5 Caractéristiques des souches bactériennes utilisées

Bactérie	Gram	ATCC
<i>Escherichia coli</i>	Négatif	25922
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Négatif	700603
<i>Salmonella typhimurium</i>	Négatif	140288
<i>Bacillus speizini.</i>	Positif	6633
<i>Staphylococcus aureus</i>	Positif	25923

2.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits organiques (méthanolique) de *Foeniculum vulgare* et *Anethum graveolens* a été évaluée par deux techniques : la technique de diffusion sur disque et la technique des puits vis-à-vis de cinq souches bactériennes.

2.3.2.1. Réactivation des souches bactériennes

Les souches bactériennes ont été réactivées dans un bouillon nutritif (BN) et incubées à 37°C pendant 24h.

2.3.2.2. Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées par la méthode des stries sur gélose nutritive (Annexe 1) en boîte de pétri. A l'aide des écouvillons stérile, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures, afin d'obtenir une culture jeune et des colonies isolées qui ont servi à préparer l'inoculum bactérien.

2.3.2.3. Préparation des dilutions des extraits

Les extraits ont été repris avec le méthanol (macération), les concentrations des extraits sont réalisées à analyses selon les méthodes suivantes :

Solution mère SM : 100mg d'extrait avec 1ml de DMSO (100%)

T $\frac{1}{2}$: 0,5ml d'extrait de SM avec 0.5ml de DMSO (50%). .

T $\frac{1}{4}$: 0.5ml d'extrait de T $\frac{1}{2}$ avec 0.5ml de DMSO (25%).

T^{1/8} :0.5ml d'extrait de T^{1/4} avec 0.5ml de DMSO (12.5%).

T^{1/16} :0.5ml d'extrait de T^{1/4} avec 0.5ml de DMSO (6.25%).

2.3.2.4.Préparation de l'inoculum

On racle à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques de chacune des souches bactériennes à tester. Décharger l'anse dans 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, La suspension bactérienne est bien homogénéisée, son absorbance doit être comprises entre 0.08 et 0.1 à 625 nm. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

2.3.2.5.Méthode de diffusion sur disques (aromatogrammes)

L'aromatogramme ou méthode par diffusion en milieu gélosé ou encore méthode de disques est une technique qualitative permettant de déterminer la sensibilité des microorganismes vis-à-vis d'une substance réputée antimicrobienne (Tableau 06).

Le principe de cette méthode repose sur le pouvoir migratoire de l'extrait à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton) ensemencée par écouvillonnage par les bactéries tests ou des disques stériles de papier Wattman (D=6 mm) imprégnés d'une quantité de l'extrait, sont déposés au centre de ces boîtes. Celles-ci sont ensuite fermées et laissées diffuser pendant 20 mn puis incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse (ou une règle) (exprimé en mm) (Pibiri, 2005).

Tableau 6 La sensibilité des souches vis-à-vis des extraits

le diamètre d'inhibition « D »	Sensibilité
<8 mm	Non sensible(-)
Compris 9-14 mm	Sensible (+)
15-19 mm	Très sensible (++)
>20 mm	Extrêmement sensible (+++)

2.3.2.6.Méthode des puits

Des boîtes de pétri remplies du milieu Mueller Hinton (Annexe 1) ont étéensemencées par écouvillonnage par les bactéries tests. La gélose est ensuite percée avec des perforateurs stériles

En obtenant par la suite Cinq puits : un puit contenant 20 µl de DMSO considéré comme un témoin négatif, et les autres comprenant chacun 20 µl des extraits étudiés à une concentration de 100 mg/ml. L'ensemble est incubé pendant 30 minutes au réfrigérateur (4°C) puis incubé pendant 24h à 37°C, l'activité antibactérienne se traduit par l'apparition des zones claires autour des puits dont on peut calculer les diamètres (Abdollahzadeh *et al.*, 2021).

2.4. Test du pouvoir antifongique

2.4.1. La réactivation des isolats fongiques

La levure *Candida albicans* a étéensemencée sur le milieu Sabouraud (Annexe 1), puis incubée pendant 24 jusqu'à 48h à 37°C.

Par contre, les champignons filamenteux *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium s* ont étéensemencés sur PDA puis incubés à 28°C pendant 7 jours.

2.4.2. Préparation des suspensions fongiques

Pour les filamenteux ; des suspensions denses de spores et de fragments mycéliens sont obtenues par raclage des cultures après addition d'eau physiologique. Les suspensions sont diluées jusqu'à atteindre une absorbance de 0,2 à 650 nm. Ces suspensions sont diluées encore une fois au 1/10e dans de l'eau physiologique.

Par contre, la suspension levurienne est ajustée par l'eau physiologique stérile à une densité de 0,5 Mc Farland.

2.4.3. La technique des puits

Des boîtes de pétri remplies du milieu Sabouraud ont étéensemencées par les suspensions préalablement préparées. La gélose a été percée en formant des puits contenant 20µl d'extrait végétal de différentes concentrations (100mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml et 6,25 mg/ml). Les boîtes ont été incubées à 4°C pendant 30 minutes puis à 28°C pendant 48 à 72h pour les moisissures et 24 à 48h pour *Candida albicans*. L'activité antifongique se traduit par

l'apparition d'une zone claire autour des puits dont on peut calculer le diamètre de puits (Wiesmann *et al.*, 1975).

Résultats et discussion

1. Détermination du rendement

Dans cette étude, Les rendements d'extraction de nos extraits (macération) obtenus après évaporation ont été déterminés par rapport au matériel végétal sec. Ces résultats sont représentés dans le **tableau 07**.

Tableau 7 Tableau récapitulatif regroupant les rendements des extraits des graines de *Foeniculum vulgare*; des graines et des fleurs de *Anethum graveolens*

Matériel Végétal	Méthode d'extraction	Couleurs	Aspects	Rendement (%)
Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	Macération	Vert	Huile	6.36
Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>	Macération	Vert foncé	Huile	20.26
Graines d' <i>Anethum graveolens</i>	Macération	Jaune	Huile	6.46

Les résultats mentionnés dans ce tableau ont montré que les fleurs d'*Anethum graveolens* sont riche en différents composants biochimiques. Selon les résultats de rendement d'extraction on peut dire que les fleurs ont des teneurs élevées en polyphénols 20.26% par rapport aux graines et aux graines de *Foeniculum vulgare* (6.46% et 6.36%) respectivement. D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction du solvant d'extraction, la méthode d'extraction appliquée, la taille des particules et le coefficient de diffusion de solvant.

2. Activités biologiques

1.1. Test du pouvoir antioxydant

C'est la capacité de capter ou de piéger les radicaux libres produits spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant.

Nous avons utilisé quatre méthodes, *in vitro*, qui sont : DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits des graines de *Foeniculum vulgare* et des graines et des fleurs d'*Anethum graveolens*

L'évaluation de l'activité antioxydante des trois extraits a été effectuée selon quatre méthodes : le pouvoir antiradicalaire au DPPH, le piégeage du cation radical ABTS, la réduction par la formation du complexe Fe²⁺-phénanthroline et le test FRAP. .

1.1.1. Activité anti-radicalaire au DPPH

Dans la présente étude, l'activité anti radicalaire a été évaluée par la mesure de la capacité des extraits à réduire le radical DPPH, en la comparant avec les standards : Trolox et l'acide ascorbique. Les résultats du pourcentage d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits sont présentés dans le tableau 08

Tableau 8 Inhibition du radical libre DPPH par les extraits

Inhibitions%							
Concentrations des extraits (µg/ml)	12,5	25	50	100	200	400	IC50
Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	9,61 ±1,90	16,73 ±1,64	28,50± 2,82	80,45 ±0,54	84,88 ±1,14	85,71± 0,45	72,05 ±4,36
Fleur d' <i>Anethum graveolens</i>	1,77± 2,20	7,34 ±3,36	13,79± 0,62	32,83 ±2,42	62,03± 1,25	86,28± 0,73	171,89± 9,88
Graines d' <i>Anethum graveolens</i>	Aucune activité	Aucune activité	0,53 ±0,39	0,74± 1,16	8,68± 0,71	19,98± 2,13	>400
Concentration des standards (µg/ml)	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	IC50
Trolox	6.42±0.91	13.33±2.14	30.19±0.67	61.48±2.98	87.16±0.28	88.46±0.11	5.12±0.21
Ascorbic acid	0.31±1.02	12.90±0.28	29.69±0.39	76.67±0.37	84.94±0.84	87.78±0.49	4.39±0.01

Selon les résultats, l'extrait de Graines de *Foeniculum vulgare* avait une activité modérée de piégeage des radicaux libres DPPH (IC₅₀= 72,05 ±4,36 µg/ml), en la comparant avec celle du Trolox (IC₅₀= 5.12±0.21µg/ml) et de l'acide ascorbique (IC₅₀= 4.39±0.01µg/ml) et par rapport aux extraits Fleur d' *Anethum graveolens* (IC₅₀= 171,89± 9,88µg/ml) et des graines d'*Anethum graveolens* qui a enregistré la plus faible activité (IC₅₀>400).

1.1.2. Piégeage du cation radical 2,2-azinobis-(3éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) ABTS

L'activité de piégeage du radical ABTS reflète la capacité d'un antioxydant à piéger le radical ABTS de couleur bleu/vert pour le convertir à sa forme non radicalaire ABTSH incolore. Les résultats de cette activité en fonction des concentrations des extraits sont mentionnés dans le tableau 09

Tableau 9 : Inhibition du cation radical ABTS par les extraits

Inhibitions%								
Concentrations des extraits (µg/ml)	12.5	25	50	100	200	400	800	IC50
Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	9,13±1,86	13,58±0,25	22,92±2,04	48,36±2,35	65,27±1,83	67,79±0,32	72,25±0,79	103,97±41,44
Fleur d' <i>Anethum graveolens</i>	3,22±1,43	6,01±4,56	11,43±2,42	24,64±2,24	50,46±0,94	84,33±1,21	90,71±0,41	217,10±5,04
Graines d' <i>Anethum graveolens</i>	1,99±2,34	2,15±4,40	7,89±3,06	11,38±2,42	21,42±1,32	54,11±0,81	57,11±0,73	663,31±6,39
Concentration des standards (µg/ml)	0.78125	1.5625	3.125	6.25	12.5	25	50	IC50
Trolox	14.74±0.37	26.15±0.65	51.70±1.51	89.72±0.67	92.89±0.19	92.89±0.19	91.84±1.19	3.21±0.06
Ascorbic acid	13.43±0.82	28.76±0.67	52.94±0.94	93.21±0.11	93.08±0.19	92.40±0.88	92.96±0.11	3.04±0.05

L'extrait Graines de *Foeniculum vulgare* a montré la plus forte activité (IC50= 103,97± 41,44 µg/ml) suivi par l'extrait Fleur d' *Anethum graveolens* (IC50= 217,10±5,04µg/ml). Cependant l'extrait Graines d' *Anethum graveolens* a enregistré la plus faible activité par rapport aux autres extraits avec une IC50= 663,31±6,39 µg/ml qui est six fois réduite par rapport à celle des Graines de *Foeniculum vulgare*, ce dernier possède un bon piégeage du cation radical ABTS comparativement aux antioxydants standards Trolox(IC50=3,21±0.06µg/ml) et l'acide ascorbique (IC50=3,04±0.05µg/ml).

Les extraits ont démontré une faible capacité de piégeage des radicaux libres dans cette activité par rapport à l'activité de piégeage des radicaux libres DPPH.

1.1.3. Activité de réduction par la formation du complexe Fe+2- phénantroline

Un complexe rouge-orange de Fe+2-phénantroline est formé par un processus d'oxydoréduction. Pour évaluer cette réduction, les valeurs de l'absorbance des différents extraits sont comparées à celles des références Trolox et acide ascorbique. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Inhibition du complexe Fe+2- phénantroline

Absorbances								
Concentrations des extraits (µg/ml)	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	A0,5
Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	0,27±0,01	0,28±0,00	0,29±0,01	0,30±0,00	0,34±0,01	0,40±0,00	0,63±0,01	141,36±2,57
Fleur d' <i>Anethum graveolens</i>	0,26±0,00	0,28±0,01	0,29±0,00	0,31±0,01	0,36±0,01	0,44±0,01	0,62±0,03	133,50±12,21
Graines d' <i>Anethum graveolens</i>	0,27±0,00	0,28±0,00	0,29±0,02	0,30±0,01	0,32±0,01	0,37±0,01	0,45±0,03	>200
Concentration des standards (µg/ml)	0.0976	0.195	0.390	0.781	1.562	3.125	6.25	A0,5
Trolox	0.25±0.01	0.24±0.01	0.26±0.01	0.26±0.00	0.32±0.01	0.38±0.01	0.56±0.02	5.21±0.27
Ascorbic acid	0.26±0.01	0.29±0.00	0.29±0.02	0.31±0.01	0.37±0.01	0.50±0.00	0.80±0.00	3.08±0.02

Avec des degrés de puissance variables, les extraits sont capables de réduire le fer et de former le complexe Fe+2-phénantroline. Ce pouvoir augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration des extraits et des standards utilisés. Selon le **tableau** , le pouvoir de réduction maximal a été enregistré avec l'extrait des Fleurs d' *Anethum graveolens* (ABS0,5= 133,50± 12,21 µg/ml), suivi par celui des Graines de *Foeniculum vulgare* (ABS0,5=

µg/ml). En outre, une activité relativement moyenne a été enregistré par l'extrait des graines d' *Anethum graveolens* . Par ailleurs, ces résultats sont bons comparativement à l'acide ascorbique (ABS_{0,5}= 3.08±0.02µg/ml) et le Trolox (ABS_{0,5}= 5.21±0.27µg/ml).

La présence d'agents réducteurs dans ces extraits permet de réduire le Fe⁺³ en Fe⁺², qui forme alors un composé stable avec la phénantroline rouge-orange. L'approche spectrophotométrique révèle cette combinaison Fe⁺²-phénantroline, ce qui permet de mesurer les ions ferreux et, par conséquent, déterminer le pouvoir réducteur de l'antioxydant.

1.1.4. Test du Pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP)

La capacité des extraits examinés à réduire le fer ferrique jaune (Fe⁺³) en fer ferreux bleu-vert (Fe⁺²) en mesurant les valeurs A_{0,5} est rapportée dans le tableau 11

Tableau 11 : Pouvoir réducteur des extraits fongiques par le test FRAP

Absorbances								
Concentrations des extraits (µg/ml)	3,125	6,25	12,5	25	50	100	200	A _{0,5}
Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	0,13±0,00	0,14±0,00	0,15±0,00	0,23±0,02	0,30±0,00	0,47±0,03	0,70±0,02	119,96±4,87
Fleur d' <i>Anethum graveolens</i>	0,16±0,00	0,18±0,01	0,21±0,00	0,28±0,00	0,32±0,13	0,80±0,12	0,94±0,19	65,40±13,64
Graines d' <i>Anethum graveolens</i>	0,24±0,01	0,26±0,01	0,32±0,01	0,34±0,01	0,43±0,00	0,45±0,05	0,59±0,05	124,84±14,09
Concentration des standards (µg/ml)	0.0976	0.195	0.390	0.781 µg	1.562	3.125	6.25	A _{0,5}
Trolox	0.07±0.00	0.08±0.00	0.09±0.01	0.13±0.00	0.19±0.02	0.28±0.05	0.60±0.04	5.25±0.20
Ascorbic acid	0.07±0.00	0.09±0.01	0.12±0.01	0.17±0.01	0.25±0.02	0.47±0.03	0.79±0.09	3.62±0.29

Les résultats obtenus indiquent que la capacité de réduction des trois extraits étudiés, ainsi que celle des standards, augmente proportionnellement avec les concentrations utilisées. L'extrait des Fleurs d' *Anethum graveolens* semble présenter une capacité de réduction du fer

supérieure par rapport à celles des deux autres extraits et relativement proche par rapport aux standards.

Nos résultats indiquent que l'extrait graines de *Foeniculum vulgare* a montré la meilleure activité antioxydante pour la plupart des méthodes utilisés. L'activité antioxydante pourrait être due à sa richesse en composés phénoliques communément connus pour leurs propriétés antioxydantes.

1.2. Test du pouvoir antibactérien

L'activité antimicrobienne des différents extraits obtenus à partir des graines de *Foeniculum vulgare* et des graines et des fleurs *Anethum graveolens* contre un panel de cinq micro-organismes (bactéries) a été évaluée qualitativement en utilisant deux méthodes à savoir la méthode de diffusion sur disque et la méthode des puits. Ces méthodes ont l'avantage de tester les différents extraits contre un seul micro-organisme dans une même boîte Pétri

1.2.1. Mise en évidence de l'activité antibactérienne selon la technique de diffusion des disques

Après incubation de 24h à 37°C l'activité antibactérienne est évaluée qualitativement par la présence ou l'absence d'une zone claire autour du disque. Les résultats de l'activité antibactérienne sont obtenus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. Les résultats sont présentés dans les tableaux (12, 13 et 14)

Tableau 12 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines de *Foeniculum vulgare* vis-à-vis les quatre bactéries testées

Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>				
Concentrations	<i>Bacillus speizizini.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	14 mm	11 mm	6 mm	7 mm
T $\frac{1}{2}$	10 mm	8 mm	6 mm	7 mm
T $\frac{1}{4}$	8 mm	7 mm	6 mm	6 mm
T $\frac{1}{8}$	7 mm	6 mm	6 mm	6 mm
T $\frac{1}{16}$	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm

Après incubation les résultats du test de l'activité antibactérienne de **Graines de *Foeniculum vulgare*** ont été négatifs avec les deux bactéries *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* par ailleurs, un résultat positif a été obtenu avec *Bacillus spezizini* et *Klebsiella pneumoniae*. Avec l'observation de zones d'inhibition de 14mm à 11mm respectivement. (Figure 15)

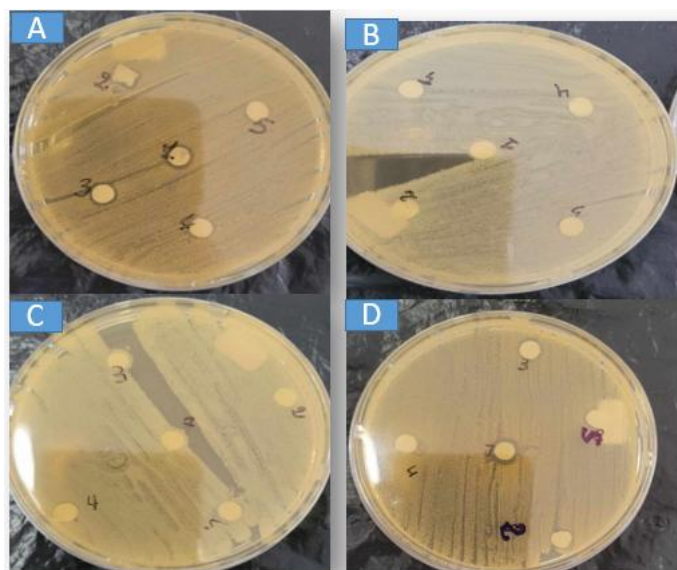


Figure 16 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines de *Foeniculum vulgare*

Tableau 13 Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines d'*Anethum graveolens* vis à-vis les quatre bactéries testées

Graines d' <i>Anethum graveolens</i>				
Concentrations	<i>Bacillus spezizini.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	10 mm	8 mm	10 mm	8 mm
T ^{1/2}	10 mm	7 mm	9 mm	8 mm
T ^{1/4}	9 mm	6 mm	8 mm	7 mm
T ^{1/8}	7 mm	6 mm	7 mm	7 mm
T ^{1/16}	8 mm	6 mm	6 mm	7 mm

Les zones d'inhibition ont été observées contre *Bacillus spezizini* et *Staphylococcus aureus* avec des diamètres de 10 mm pour l'extrait **Graines d'*Anethum graveolens*** . Aucune zone d'inhibition n'a été observée avec les deux souches testées *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. (Figure 16).

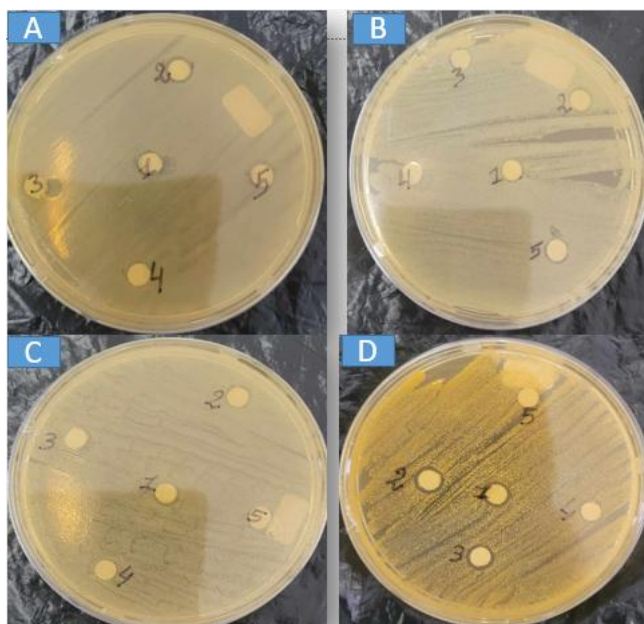


Figure 17 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines d'*Anethum graveolens*

Tableau 14 Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des Fleurs d'*Anethum*

Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>				
Concentrations	<i>Bacillus spezizini.</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	9 mm	9 mm	10 mm	9mm
T ^{1/2}	8 mm	6 mm	9 mm	8 mm
T ^{1/4}	7 mm	6 mm	8 mm	6 mm
T ^{1/8}	7 mm	6 mm	6 mm	6 mm
T ^{1/16}	7 mm	6 mm	6 mm	6 mm

L'extrait Fleurs d'*Anethum graveolens* a montré un effet contre *Staphylococcus aureus* . avec une zone de lyse égale à 10mm et un effet faible contre les bactéries *Bacillus*

spezzini, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre d'inhibition de 9mm. (Figure 18)

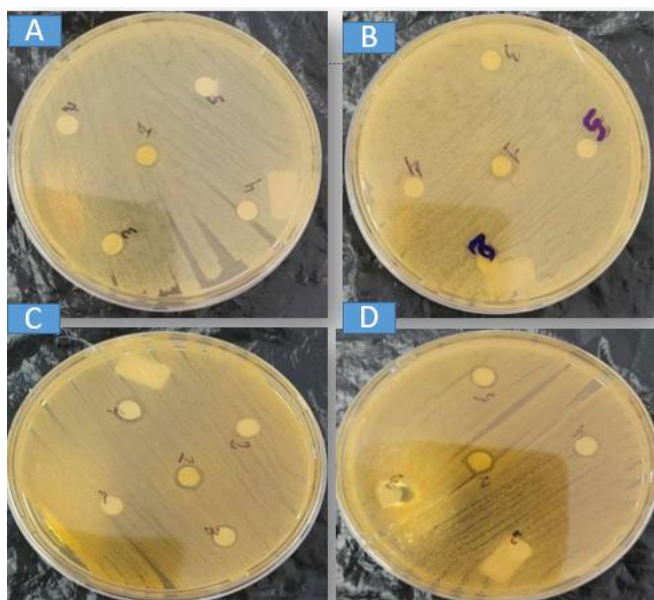


Figure 18 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d'*Anethum graveolens*

De manière générale, des effets antibactériens variables ont été obtenus, selon l'organe végétal, les différentes concentrations testées et aussi bien selon les souches bactériennes. Les extraits ont inhibé la croissance des souches bactériennes avec des zones d'inhibitions allant de (8 à 14 mm) . D'après les données des tableau précédents, nous notons que les extraits des graines d' *Anethum graveolens* ont présenté des pouvoirs inhibiteurs significativement les plus prononcés que les autres extraits vis-à-vis des quatre souches bactériennes testées.

1.2.2. Mise en évidence de l'activité antibactérienne selon la technique des puits

Après incubation de 24h à 37°C l'activité antibactérienne est évaluée qualitativement par la présence ou l'absence d'une zone claire autour du puit. Les résultats de l'activité antibactérienne sont obtenus en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. Les résultats sont présentés dans les tableaux (15 , 16 et 17) et les figures (18 ,19 et 20).

Tableau 15 Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines de *Foeniculum vulgare* vis-à-vis les quatre bactéries testées

Graines de <i>Foeniculum vulgare</i>				
Concentrations	<i>Bacillus speizizini.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	9 mm	15 mm	6mm	8 mm
T $\frac{1}{2}$	8 mm	9 mm	6 mm	6 mm
T $\frac{1}{4}$	8 mm	9 mm	6 mm	6 mm
T $\frac{1}{8}$	7 mm	8 mm	6 mm	6mm
T $\frac{1}{16}$	6 mm	8 mm	6 mm	6 mm

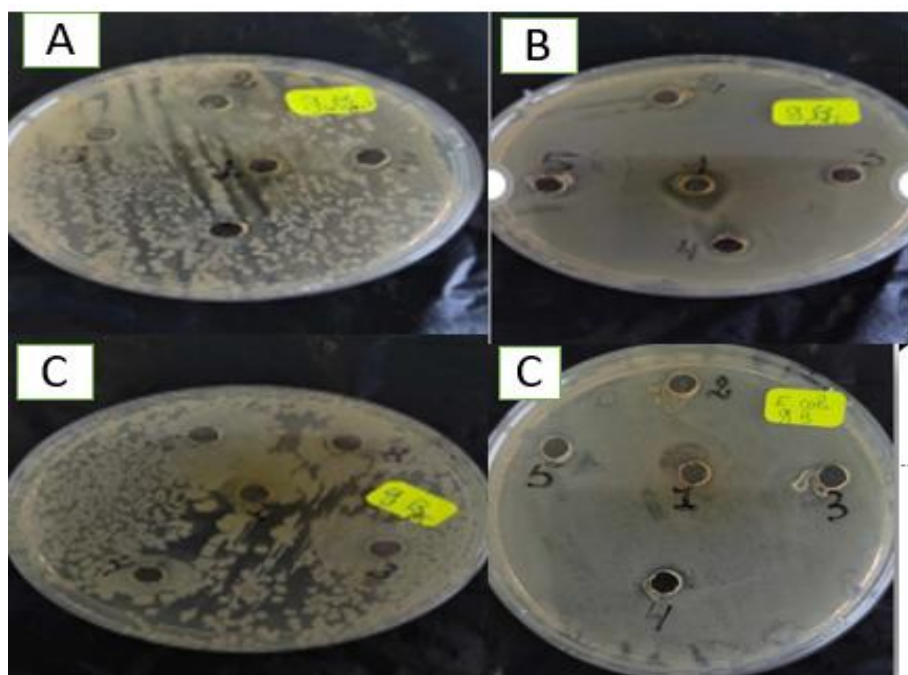


Figure 19 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait des graines de *Foeniculum vulgare*

Graines d' <i>Anethum graveolens</i>				
Concentrations	<i>Bacillus spezzini.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	15 mm	15 mm	6 mm	11 mm
T ^{1/2}	10 mm	11 mm	6 mm	6 mm
T ^{1/4}	10 mm	10 mm	6 mm	6 mm
T ^{1/8}	8 mm	10 mm	6 mm	6 mm
T ^{1/16}	7 mm	7 mm	6 mm	6 mm

Tableau 16 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des graines d'*Anethum graveolens* vis-à-vis les quatre bactéries testées

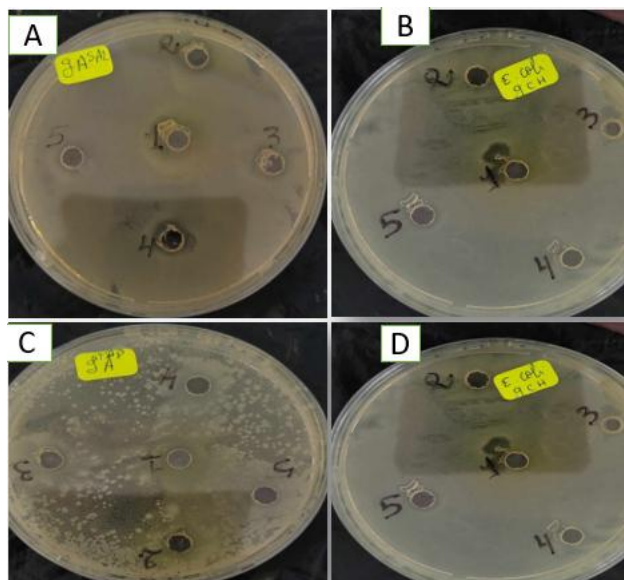


Figure 20 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de graines d'*Anethum graveolens*

Tableau 17 : Diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait des fleurs d'*Anethum graveolens* vis-à-vis les quatre bactéries testées

Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>				
Concentrations	<i>Bacillus spezzini.</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
SM	12 mm	16 mm	8 mm	10 mm
T $\frac{1}{2}$	10 mm	14 mm	6 mm	9 mm
T $\frac{1}{4}$	6 mm	12 mm	6 mm	8 mm
T $\frac{1}{8}$	6 mm	10 mm	6 mm	8 mm
T $\frac{1}{16}$	6 mm	9 mm	6 mm	6 mm

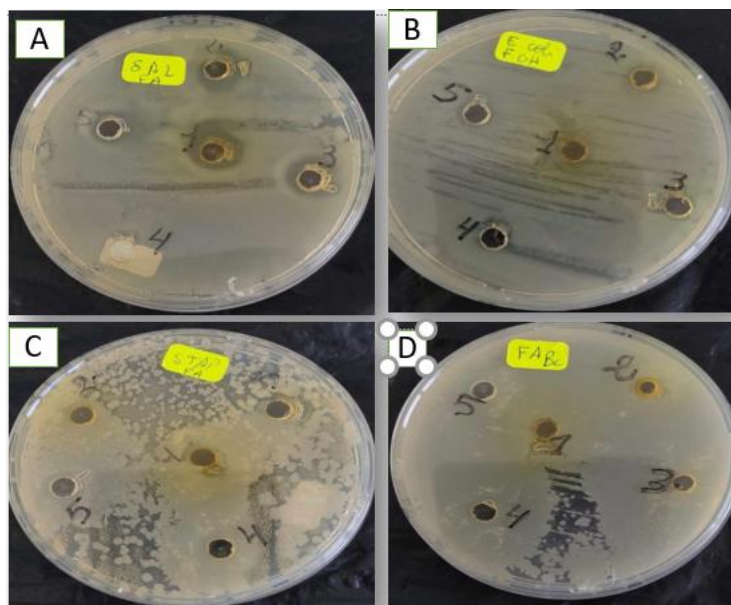


Figure 21 Zones d'inhibition de différentes souches bactériennes traitées par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d'*Anethum graveolens*

Toutes les souches bactériennes sont sensibles à l'extrait de fleurs d'*Anethum graveolens* dont les valeurs du diamètre d'inhibition atteints (16, 12 ,10 et 8) mm respectivement.

1.3. Test du pouvoir antifongique

1.3.1. Les champignons filamenteux

L'activité antifongique des extraits de graines et de fleurs d'aneth et de graines de fenouil a été évaluée par la méthode de diffusion en puits en milieu gélose. Les souches fongiques testées incluaient *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* *Penicillium* spp. Une dose standardisée de 40 µl de chaque extrait a été appliquée. Les résultats de notre étude indiquent que les extraits testés (graines de fenouil, graines d'aneth, fleurs d'aneth) n'ont aucun effet significatif sur les souches fongiques testées (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium* sp.).

1.3.2. La levure *Candida albicans*

Les résultats obtenus au cours de cette étude montrent que les trois extraits testés exercent un effet inhibiteur sur la croissance de la levure *Candida albicans* (Figure 21) dont l'activité la plus forte a été enregistrée avec l'extrait de graine d' *Anethum graveolens* avec un diamètre d'inhibition de 18mm (tableau 18).

Table 18 : Diamètres de la zone d'inhibition des extraits de *Foeniculum vulgare* et d'*Anethum graveolens* vis-à-vis à *Candida albicans*

<i>Candida albicans</i>			
Concentrations	graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	graines d' <i>Anethum graveolens</i>	Fleurs d' <i>Anethum graveolens</i>
SM	14 mm	18 mm	14 mm
T ^{1/2}	10 mm	12 mm	11 mm
T ^{1/4}	8 mm	10 mm	10 mm
T ^{1/8}	7 mm	9 mm	10 mm
T ^{1/16}	6 mm	8 mm	9 mm



Figure 22 Zones d'inhibition de *Candida albicans* traitée par différentes concentrations d'extrait de Fleurs d'*Anethum graveolens*

L'utilisation de *Foeniculum vulgare* et de *Anethum graveolens* dans la médecine traditionnelle nous a encouragés à approfondir notre compréhension de leurs activités biologiques en évaluant leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques.

L'obtention des composés phytochimiques des plantes nécessite de nombreuses étapes, comme le broyage, l'homogénéisation et l'extraction.

Selon Do et al. (2014), l'extraction joue un rôle crucial dans l'identification et la récupération des composés phytochimiques présents dans le matériau végétal. Selon Stalikas (2005), elle est déterminée par la composition chimique des substances bioactives, la méthode employée et la taille de l'échantillon végétal étudié.

D'après les conclusions, le méthanol est un solvant d'extraction plus efficace pour extraire divers composés phytochimiques actifs. Selon Dixon et Jeena G (2017). Effectivement, la polarité de la solution contribue à accroître la solubilité des composés phénoliques (Mekinic et al., 2014).

Les rendements des huiles essentielles extraites des extraits de fleurs et de graines d'aneth ainsi que des graines de fenouil varient de (6,36 -20,26%).L'efficacité de l'extractionSelon Leclerc (1994), les composés actifs présents dans les végétaux diffèrent considérablement en fonction de l'âge de la plante, de la période de récolte et de la durée de stockage.Par conséquent, lorsque les plantes sont agressées par des micro-organismes pathogènes, les niveaux de composés phénoliques augmentent considérablement, ce qui entraîne la mise en œuvre de mécanismes de défense de la plante (Dixon et Paiva, 1995). De plus, la teneur en phénol peut fluctuer en fonction des conditions d'extraction, telles que le temps de macération, le volume et la nature du solvant, la taille des particules et la présence de phénol.

De plus, les conditions d'extraction peuvent influencer le contenu phénolique, tels que le temps de macération, le volume et la nature du solvant, la taille des particules et la présence de substances interférentes (Mallika et Dhar, 1980 ; Eloff, 1998 ; Pinelo et al., 2005 ; Hayouni et al., 2007). Ces teneurs peuvent également varier en raison de la disparité des normes utilisées et des matériaux végétaux testés de cette espèce.

Dans la plupart des méthodes qui sont utilisées récemment pour estimer les propriétés antioxydantes des composés ou des extraits, Le piégeage des radicaux libres est souvent évalué à l'aide du DPPH en raison de sa simplicité et de sa disponibilité. Le DPPH se transforme en une molécule diamagnétique stable en acceptant un électron ou un radical hydrogène. Le radical DPPH a une capacité de réduction qui est influencée par la réduction de l'absorbance causée par les antioxydants des plantes. Dans cette étude, les extraits de l'aneth (entièrement, semence) sont analysés dans les sites de Mohamadia et de Sidi Bel Abbes (Tifouri BZ, 2021). A $IC_{50}=3,01 \pm 0.05$, Dans sa forme libre, le radical cation de l'acide 2,2'-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS) est stable. L'acide correspondant peut oxyder facilement ce radical en présence du persulfate de potassium (Roukia H et al.,2015).

Le test à la phénanthroline détecte la présence de fer ferreux (Fe^{2+}) en réagissant avec le 1,10-phénanthroline, formant un complexe orange (SRIEF M., 2023).

Le test FRAP évalue le pouvoir réducteur ferrique, initialement pour le plasma humain et ensuite pour les extraits de plantes. Il implique la réduction de Fe^{3+} -TPTZ en Fe^{2+} -TPTZ par un antioxydant, résultant en une couleur bleue intense à 595 nm (Pulido, B et Saura-Calixto.,2000).

Les fleurs d'aneth se montrent plus efficaces que les graines d'aneth et de fenouil, ceci peut être expliqué par la richesse de cet extrait en composés phénoliques antioxydants qui contribuent fortement dans la neutralisation et pouvoir de réducteur.

Concernant l'activité antibactérienne, les extraits testés ont montré une activité significative contre toutes les souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus speizini*, *Staphylococcus aureus*) avec des zones d'inhibition allant de (6 à 16) mm. . Les graines de fleurs d'aneth ont montré la plus grande activité antibactérienne parmi les échantillons testés dans les deux méthodes (Méthode des puits et Méthode des disques) . Les différences observées par rapport aux études précédentes peuvent être attribuées aux différences dans les concentrations d'extraits, les méthodes expérimentales et la sensibilité des souches bactériennes.

L'activité antibiotique peut également s'expliquer par la capacité d'une molécule ou d'un composé présent dans une plante à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer à de très faibles concentrations. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques peut varier selon la nature de l'antibiotique. De plus, différentes souches bactériennes peuvent présenter différents niveaux de sensibilité à un même antibiotique (Daniel et Nicolas, 1998. ABIDI K et NAHAL G, 2016).

Quant à l'activité antifongique des extraits de graines et de fleurs d'aneth et de graines de fenouil, il n'y a aucune activité contre les souches testées *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* et *Penicillium spp*, contrairement à ce qui a été rapporté dans la littérature scientifique (Raih S et Senouci I. , 2017). A l'exception de *Candida albicans*, les extraits testés ont montré une activité élevée avec des zones d'inhibition comprises entre (14 et 18) mm. Cela peut être attribué aux raisons suivantes : différence de composition chimique des extraits, décomposition des extraits). composés actifs Interaction avec d'autres extraits. . développement de résistances chez les champignons...etc.

Conclusion et perspectives

Aujourd'hui, de nombreuses plantes médicinales ont des propriétés biologiques très importantes qui sont utilisées dans divers secteurs, tels que l'industrie, la médecine, la pharmacie et l'agriculture.

Dans cette situation, notre attention se porte sur les recherches en cours qui étudient les propriétés phytochimiques et biologiques (antioxydantes, antibactériennes et antifongiques) des extraits d. Nous avons opté pour cette plante en raison de son utilisation en médecine traditionnelle et de sa disponibilité élevée en Algérie.

Les extraits bruts obtenus à l'aide de techniques d'extraction montrent que ces valeurs diffèrent grandement en fonction de la méthode d'extraction utilisée. Effectivement, les extraits méthanoliques d'aneth (graines et fleurs) et de fenouil (graines) sont les plus efficaces (6,46%, 20,26% et 6,36%).

Les données sur l'activité antioxydante des extraits de fenouil et d'aneth enregistrées dans cette étude montrent qu'une concentration de 4 mg/ml de l'extrait de fleurs d'aneth présente une capacité neutralisante et réductrice.

La méthode d'extraction utilisée dans cette étude a montré une sensibilité variable et efficace des agents bactériens pour les différents extraits testés, avec des zones d'inhibition allant de 5 à 16 mm. L'extrait méthanolique de fleurs d'aneth a montré les effets antibactériens les plus significatifs avec une concentration de 100 mg/ml, avec une sensibilité élevée contre la souche Gram-négatif *Salmonella typhimurium* (16) mm et une sensibilité modérée contre la souche Gram positif *Staphylococcus aureus* (12) mm.

Cette étude a également récapitulé l'activité antifongique observée dans cette étude concernant le manque de sensibilité des agents fongiques aux différents extraits testés contre *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium spp.*

L'extrait méthanolique des différents extraits testés a montré des effets contre *Candida albicans*, avec une zone d'inhibition moyenne de 14 à 18 mm.

Des travaux complémentaires sont alors nécessaires pour

- Isoler et identifier les substances bioactives responsables des activités testées.
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles pourront répondre aux différents problèmes de la santé et d'être un alternatif des médicaments synthétiques.
- Développer des médicaments antiradicalaires à base de plantes, doués d'activités biologiques

Résumé

Summary

This research explores the biological and medicinal properties of *Foeniculum vulgare* (fennel) and *Anethum graveolens* (dill) extracts, focusing on their antioxidant and antimicrobial activities. The extracts were obtained through maceration and analyzed for their yield, color, and appearance. The methods used include maceration extraction in methanol followed by filtration and evaporation to obtain dry extracts, and the evaluation of antioxidant activity using DPPH, ABTS, FRAP, and phenanthroline methods. Antibacterial and antifungal activity tests were conducted on various strains. The results showed that the flowers of *Anethum graveolens* had a higher extraction yield (20.26%) compared to the seeds of *Foeniculum vulgare* and *Anethum graveolens*. The extracts demonstrated a significant capacity to scavenge free radicals and notable antimicrobial activity, particularly the seed extracts of *Anethum graveolens* against *Candida albicans*. The study concludes that these extracts possess promising antioxidant and antimicrobial properties with potential applications in the pharmaceutical and food industries. Using larger volumes of extract in the tests showed better efficacy, suggesting that optimizing extraction and testing conditions could improve the results.

Keywords: *Foeniculum vulgare*, *Anethum graveolens*, antioxidant activity, antimicrobial activity,

يتناول هذا البحث الخصائص البيولوجية والطبية لمستخلصات الشمر والشبث، مع التركيز على نشاطهما المضاد للأكسدة والمضاد للميكروبات. تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع وتم تحليلها لتحديد مردودها ولونها ومظهرها. تشمل الطرق المستخدمة استخراج النقع في الميثانول يليها الترشيح والتبخير للحصول على المستخلصات الجافة، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة باستخدام طرق DPPH ، ABTS ، FRAP، والفينانثرولين. أجريت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات على عدة سلالات. أظهرت النتائج أن زهور الشبث لديها مردود استخراج أعلى (20.26%) مقارنة ببذور الشمر والشبث. أظهرت المستخلصات قدرة ملحوظة على التقاط الجذور الحرة ونشاطاً مضاداً للميكروبات، خاصةً مستخلصات بذور الشبث ضد *Candida albicans*. يخلص البحث إلى أن هذه المستخلصات تمتلك خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للميكروبات واعدة، مع تطبيقات محتملة في المجالات الصيدلانية والغذائية. أظهرت استخدامات كميات أكبر من المستخلص في الاختبارات فعالية أفضل، مما يشير إلى أن تحسين ظروف الاستخراج والاختبار قد يحسن النتائج.

الكلمات المفتاحية: الشمر، الشبث، نشاط مضاد للأكسدة، نشاط مضاد للميكروبات، ABTS ، FRAP، الفينانثرولين،

Année universitaire : 2023-2024

Présenté par : Benkolli douniazed
Talbi faiza

Étude biologique de quelques plantes de la famille des Apiacées *Foeniculum vulgare* et *Anethum graveolens*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en écologie microbienne

Résumé

Ce mémoire explore les propriétés biologiques et médicinales des extraits de *Foeniculum vulgare* (fenouil) et *Anethum graveolens* (aneth), en se concentrant sur leur activité antioxydante et antimicrobienne. Les extraits ont été obtenus par macération et analysés pour leur rendement, couleur et aspect. Les méthodes utilisées incluent l'évaluation de l'activité antioxydante par les méthodes DPPH, ABTS, FRAP et phénantroline, ainsi que des tests d'activité antibactérienne et antifongique sur diverses souches. Les résultats montrent que les fleurs d'*Anethum graveolens* ont un rendement d'extraction plus élevé (20,26%) comparé aux graines de *Foeniculum vulgare* et *Anethum graveolens*. Les extraits ont démontré une capacité significative à piéger les radicaux libres et une activité antimicrobienne notable, en particulier les extraits de graines d'*Anethum graveolens* contre *Candida albicans*. Les extraits de *Foeniculum vulgare* et d'*Anethum graveolens* possèdent des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes prometteuses, avec des applications potentielles dans les domaines pharmaceutique et alimentaire. L'utilisation de volumes d'extrait plus importants dans les tests a montré une meilleure efficacité, suggérant que l'optimisation des conditions d'extraction et de test pourrait améliorer les résultats.

Mots-clés : *Foeniculum vulgare*, *Anethum graveolens*, activité antioxydante, activité antimicrobienne

Laboratoires de recherche : Laboratoire mycologie, de biotechnologie et de l'activité antimicrobienne (U Constantine 1 Frères Mentouri).

Président du jury : Dr GHORRI Sana (MCA) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Encadrant : Dr BENSERRADJ Ouafa (MCA) - U Constantine 1 Frères Mentouri).

Examineur(s) : Dr ZAAMOUCHE Ahlem (MCB) - U Constantine 1 Frères Mentouri).