



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA



Faculté des sciences

Département chimie

Mémoire de fin d'étude

Pour l'obtention du diplôme de Master en chimie

Spécialité : Chimie des produits naturels

Thème

Etude phytochimique, dosage des polyphénols et évaluation de
l'activité biologique de l'*Anethum graveolens*

Réalisé par : M^{elle} BOUBAKER Manel

Dirigé par

M^{me} NACER BEY N.

et

M^r ZAHI M.R.

Devant le jury composé de

M^{me}. TOUAFTEK O.

MCA

USDB

Présidente

M^{me} NACER BEY N.

MCB

ENSA

Promotrice

M^r. ZAHI M.R.

MCB

USDB

Co-Promoteur

M^{me} ZIANE R.

MAA

USDB

Examinatrice

2021/2022

Dédicace

Je dédie ce travail

A mon cher père pour son soutien, son affection, et la confiance qu'il m'a accordé

A ma chère mère pour son amour, ses encouragements, et ses sacrifices

A mon frère Abderraouf

A mes sœurs Souad, Souhila et Ferial

A ma chère tante

Et mes nièces Zahra et Meriem

Boubaker Manel

Remerciements

Ce mémoire n'aurait pu se concrétiser sans l'appui et les encouragements que j'ai reçus tout au long de mes années d'études. Je tiens donc à remercier ici toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à créer un environnement favorable à l'aboutissement de ce travail.

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mme Nacer Bey Nazli** Maitre de conférences(MCB) à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique (ENSA), pour avoir accepté de diriger ce mémoire, pour son exceptionnelle qualité d'encadrement. Sa rigueur, sa patience et sa disponibilité resteront gravées dans ma mémoire.*

*J'adresse mes vifs remerciements à **M. Zahi Mohamed Reda**, Maitre de conférences (MCB) à la faculté de chimie à l'université blida 1, pour le co-encadrement de ce travail. Ses orientations, sa disponibilité et ses conseils ont été d'un grand apport.*

Ma reconnaissance va également aux membres de jury qui ont accepté d'évaluer ce travail, à savoir :

***Mme. Touaffek O .**, Maitre de conférences (MCA) à la faculté de chimie à l'université blida 1, pour l'honneur qu'elle me fait en présidant ce jury,*

***Mme Ziane R.** Maitre assistante A (MAA) à la faculté de chimie à l'université blida 1, qui a bien voulu examiner ce travail.*

*Mes chaleureux remerciements s'adressent à **Mme Boubakeur S.** cheffe de département (CRD) SAIDAL, qui m'a accueillie dans son laboratoire et m'a initié aux différentes techniques. Son dévouement, sa sympathie et surtout ses compétences m'ont permis de mener à bien ce travail.*

*Je n'omettrai pas de citer le personnel du CRD (SAIDAL, Gué de Constantine) particulièrement **Mme Hali L.** cheffe de laboratoire substance naturel, **Mme Takheroubt F.**, **Mme Mekaoui N.** cheffe de laboratoire chimie analytique ainsi que **Bouchareb S.** et **Boulahlib N.**. Mes analyses de laboratoire ont été réalisées dans de meilleures conditions grâce à leurs aides, leurs encouragements et surtout leur efficacité. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aussi aux personnes qui m'ont aidé lors de mes investigations de terrains (prospection et récolte de l'aneth), qu'ils soient assurés de ma profonde gratitude. Il s'agit de **M. ROULA Bilal** (directeur de la station de recherche de l'INRF Jijel), **M. BOUKERBOUZA Abderrahmane** (directeur de la réserve de chasse de Zéralda), **M. GOUICHICHE Mohamed** (ex-directeur du Centre cynégétique de Zéralda), **M. SEBTI Mohamed** (enseignant chercheur à l'Université de Jijel), **Mme BOUTELBA Imène** (Ingénieure à la réserve de chasse de Zéralda) et **M. CHELIOUT Merouane** (Ingénieur à la conservation des forêts de Tipaza).*

Résumé

L'objectif principal de notre présent travail consiste en la valorisation de l'aneth (*Anethum graveolens*) espèce spontanée de la famille des Apiacées.

Le recours à différentes techniques d'extraction et d'analyses nous a permis d'obtenir un infusé, des extraits méthanoliques et éthanoliques par sonication ainsi que l'huile essentielle par entraînement à la vapeur dans un extracteur pilote, à partir de la plante entière et des différentes organes aériens à savoir les feuilles, les fleurs et les tiges.

Après un screening des produits extraits de différents organes, nous avons quantifié la teneur des polyphénols dans les feuilles et les fleurs d'aneth par la méthode colorimétrique en utilisant le folin ciocalteu.

Les propriétés antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires de cette plante ont aussi été mises en évidence.

La composition en métabolites de l'aneth s'est avérée assez riche (tanins, tanins galliques, tanins catéchétiques, coumarines, flavonoïdes, alcaloïdes, anthocyanes) avec des teneurs variables dans les différents organes (feuilles, les fleurs et les tiges).

Les rendements des extraits méthanoliques et éthanolique des feuilles et fleurs d'aneth sont de l'ordre de 30% et 20% respectivement. Le rendement de l'huile essentielle de la plante entière est de 0.05%.

La teneur des polyphénols est plus importante dans les feuilles d'aneth (43,5 mg EqAG/g de la matière) par rapport aux fleurs. Pour l'activité antioxydante les feuilles sont les plus efficaces avec une IC50 de 0,009 mg/ml contre le DPPH.

Pour les tests anti-inflammatoires les extraits des fleurs et des feuilles montrent des valeurs satisfaisantes de réduction de l'œdème de l'ordre de 35.12 % et 34.96 %.

L'huile essentielle de l'aneth présente une bonne activité antimicrobienne, L'ensemble des extraits méthanoliques et éthanolique ont montré des activités efficaces contre les bactéries gram+.

Mot clé : *Anethum graveolens* - screening chimique – Activités biologiques ; Sonication – dosage polyphénols

Abstract

The main objective of our present work consists in the valorisation of dill (*Anethum graveolens*), a spontaneous species of the Apiaceae family.

The use of different extraction and analysis techniques allowed us to obtain an infusion, methanolic and ethanolic extracts by sonication as well as the essential oil by steam extraction in a pilot extractor, from the whole plant and the different aerial organs, namely the leaves, flowers and stems.

After screening the extracted products from different organs, we quantified the content of polyphenols in dill leaves and flowers by the colorimetric method using folin ciocalteu and UV.

The antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory properties of this plant were also demonstrated.

The metabolite composition of dill was found to be quite rich (tannins, gall tannins, catechetical tannins, coumarins, flavonoids, alkaloids, anthocyanins) with variable contents in the different organs (leaves, flowers and stems).

The yields of methanolic and ethanolic extracts of anethum leaves and flowers are around 30% and 20% respectively. The yield of the essential oil of the whole plant is 0.05%.

The content of polyphenols is higher in dill leaves (43.5 mg EqAG/g of material) than in flowers. For antioxidant activity the leaves are the most effective with an IC₅₀ of 0.009 mg/ml against DPPH.

For the anti-inflammatory tests, the flower and leaf extracts show satisfactory values of oedema reduction in the order of 35.12% and 34.96%.

The essential oil of dill has a good antimicrobial activity, all the methanolic and ethanolic extracts showed effective activities against gram+ bacteria.

Key word: *Anethum graveolens* - chemical screening - biological activities; Sonication - polyphenol determination

ملخص

يُمثل الهدف الرئيسي لعملنا الحالي ني ثمين أنواع عفوية من الشبث (Anethum Gravidolens) لعائلة Apiaceae.

سمح لنا استخدام تونيات السنخالص والتحليل المختلفة بالحصول على مستخلصات ميثانولية وإيثانولية مغمورة عن طريق الصوتية وكذلك الزيت العطري عن طريق التقطير بالبخار في مستخرج تجريبي، من النبات بأكمله أعضاء المختلفة وهي الأوراق والزهور والسيقان.

بعد فحص المنتجات المستخرجة من أعضاء مختلفة، قمنا بتحديد محتوى البوليفينول في أوراق الشبث وزهوره بطريقة القياس اللونية باستخدام نولين سيوكالتيو والأشعة فوق البنفسجية.

كما تم عرض الخصائص المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا والمضادة للتهابات لهذا النبات

ثبت أن تركيبة مسؤلات الشبث غنية جدًا (العفص، العفص الغالي، العفص الكاثوليكي، الكومارين، الفالفونويدات، ولويدات، الأنثوسيانين) بمحتويات متغيرة في الأعضاء المختلفة (الأوراق والزهور والسيقان)

تبلغ حصة المستخلصات الميثانولية والإيثانولية الأوراق وأزهار الأنثوم حوالي 03% و03% على التوالي. العائد من الزيت العطري من النبات كله 3.30%

الكلمة الأساسية:

Anethum Gravidolens - الفرز الكيميائي - الأنشطة البيولوجية ؛ صوتة - جرة البوليفينول

Liste des tableaux

Tableau 1.1: Composés majoritaires dans l'huile essentielle d'aneth selon différents Travaux.	11
Tableau1.2 : Teneurs en métabolites secondaires de l'aneth	12
Tableau 1.3 : Métabolites secondaires dans l'extrait d'aneth.	13
Tableau 4.1 : Caractéristiques des souris utilisées pour l'activité antiinflammatoire.	33
Tableau 4.2 : Souches bactériennes utilisées pour l'activité antimicrobienne.	33
Tableau 4.3 : Quantité (en Kg) de la plante récoltée selon les quatre lots.	35
Tableau 4.5 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées.	51
Tableau 5.1 : Teneurs d'éléments étrangers dans l' <i>Anethum graveolens</i> .	53
Tableau 5.2 : Screening chimique des parties aériennes de l'aneth.	54
Tableau 5.3 : Rendements d'extractions par sonication.	55
Tableau 5.4 : Rendement de l'huile essentielle.	55
Tableau 5.5 : Teneurs des polyphénols dans les différents extraits.	57
Tableau5.6 : Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'AA selon différentes concentrations.	59
Tableau 5.7 : La concentration (IC 50) pour les différents extraits et l'acide ascorbique.	60
Tableau 5.8 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire.	61
Tableau 5.9 : Effet de l'huile essentielle et des extraits de feuilles et de fleurs de l'aneth sur les souches microbiennes.	62

Liste des figures

Figure 1.1 : Photo de <i>l'Anethum graveolens</i> .	6
Figure 1.2 : Tige de l'aneth.	6
Figure 1.3 : Feuille de l'aneth.	6
Figure 1.5 : Fleurs de L'aneth.	7
Figure 1.6 : Fruits de l'aneth.	7
Figure1.6 : Répartition de l'aneth (<i>Anethum graveolens</i>) dans le monde.	9
Figure 1.7 : Les composés majoritaires de l'huile essentielle <i>d'Anethum graveolens</i>	14
Figure 2.1 : Structure de base des phénols.	18
Figure 2.2 : Structure de base des tanins hydrolysables	19
Figure2.3 : Structure de base des alcaloïdes.	20
Figure 2.4 : Structure de base des coumarines.	20
Figure2.5 : Structure de base des flavonoïdes.	21
Figure2.6 : Structure de base des quinones.	22
Figure 2.7 : Structure de base des glucosides.	22
Figure 3.1 : Photo d' <i>Escherichia coli</i> .	25
Figure 3.2 : Photo de <i>Staphylococcus aureus</i> .	26
Figure 3.3 : Photo de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	26
Figure 3.4 : Photo de <i>Bacillus subtilis</i> .	27
Figure 3.5 : Photo de <i>Candida albicans</i> .	28
Figure 4.1 : Démarche méthodologique globale.	31
Figure 4.2 : Présentation de l'aneth et ses différents organes.	32
Figure 4.3 : Localisation du site de récolte.	34
Figure 4.4 : Site de récolte de l'aneth.	35
Figure 4.5 : Récolte et stockage de la plante.	35

Figure 4.6: Nettoyage des échantillons et élimination des éléments étrangers.	36
Figure 4.7 : Séchage de la plante.	37
Figure 4.8 : Pesée et séchage pour déterminer la perte à la dessiccation.	38
Figure 4.9 : Extracteur pilote.	42
Figure 4.10 : Extraction de l'huile essentielle d'aneth.	43
Figure 4.11 : Préparation de l'extrait méthanolique.	44
Figure 4.12 : Préparation de l'extrait éthanolique.	44
Figure 4.13 : Dosage des polyphénols totaux.	45
Figure 4.14: Réaction d'un antioxydant avec le DPPH.	46
Figure 4.15 : Principe de la méthode de diffusion par disque.	50
Figure 5.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour doser les polyphénols de l'aneth.	56
Figure 5.2 : Activité antioxydante des extraits étudiés.	58
Figure 5.3: Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits des parties aériennes de l'aneth.	59

Liste des abréviations

LDL-C: Cholestérol HDL

CT: Cholestérol total

TG: Triglycérides

HE : Huile essentielle

CG/MS : Chromatographie gaz couplée avec Spectromètre de masse

DPPH : Le 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle

OMS : Organisation mondiale de la santé

ATCC: American type culture collection

FE : Extrait éthanolique des fleurs *d'anethum graveolens*

FM : Extrait méthanolique e des fleurs *d'anethum graveolens*

LE : Extrait éthanolique des feuilles *d'anethum graveolens*

LM : Extrait méthanolique des feuilles *d'anethum graveolens*

IC 50 : Concentration inhibitrice demi-maximale

MH : Milieux Mueller-Hinton

SAB : Milieux Sabouraud

UFC/ml. : Unité Faisant Colonie par ml

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Monographie de l'*Anethum graveolens*

I.1. Généralités sur la famille des Apiacées	3
I.2. Importance économique des Apiacées	3
I.3. Généralité sur l'espèce <i>Anethum graveolens</i>	4
I.4. Description botanique de l'aneth	5
I.5. Systématique	7
I.6. Appellations vernaculaires	8
I.7. Répartition géographique de l' <i>Anethum</i>	8
I.8. Utilisation de l' <i>Anethum graveolens</i>	9
I.9. Etude et travaux antérieurs sur l'aneth	10
I.9.1. Travaux sur l'huile essentielle d'aneth	10
I.9.2. Travaux sur les extraits de l' <i>Anethum graveolens</i>	12

Chapitre II : généralités sur les huiles essentielles

II.1. Les huiles essentielles	14
II.1.1. Définition des huiles essentielles	14
II.1.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes	14
II.1.3. Influence des conditions écologiques sur la quantité et la qualité d'HE	15
II.1.4. Propriétés physiques d'HE	16
II.1.5. Composition chimique d'HE	16
II.1.6. Toxicité des huiles essentielles	17

II.2. Les métabolites secondaires	17
II.2.1. Les composés phénoliques	18
II.2.2. Les tanins	18
II.2.3. Les alcaloïdes	19
II.2.4. Les coumarines	20
II.2.5. Les flavonoïdes	21
II.2.6. Les quinones	21
II.2.7. Les glucosides	22

Chapitre III : Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante	23
III.1.1. Les antioxydants	23
III.1.1.1. Définition	23
III.1.1.3. Activité de piégeage du radical libre DPPH	24
III.2. Activité antibactérienne	24
III.2.1. Définition des bactéries	25
III.2.2. Description des souches bactériennes utilisées	25
1. <i>Escherichia coli</i>	25
2. <i>Staphylococcus aureus</i>	26
3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
4. <i>Bacillus subtilis</i>	27
5. <i>Candida albicans</i>	27
III.3. Activité anti-inflammatoire	28
III.3.1. Définition de l'inflammation	28
III.3.2. Causes de l'inflammation	28
III.3.3. Les Anti-inflammatoires	29

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV. Matériel et méthodes	30
IV.1. Matériel	32
IV.1.1. Matériel biologique	32
a) Matériel Végétal	32
b) Matériel Animal	33
IV.1.2. Présentation et choix du site de récolte	33
IV.1.3. Récolte de la matière végétale	35
IV.2. Méthodes	36
IV.2.1. Eléments étrangers	36
IV.2.2. Séchage de la matière végétale	37
IV.2.3. Perte à la dessiccation	37
IV.2.4. Screening Phytochimique	38
IV.2.4.1 Préparation de l'infusé	39
IV.2.4.2. Identification des anthocyanes	39
IV.2.4.3. Identification des leuco-anthocyanes	39
IV.2.4.4. Identification des tanins	39
IV.2.4.5. Identification des tanins catéchétiques	39
IV.2.4.6. Identification des tanins galliques	40
IV.2.4.7. Identification des quinones libres	40
IV.2.4.8. Identification des quinones combinées	40
IV.2.4.9. Identification des saponosides	40
IV.2.4.10. Identification des alcaloïdes	40
IV.2.4.11. Identification des coumarines	40

IV.2.4.12. Identification des flavonoïdes	41
IV.2.4.13. Identification des glucosides	41
IV.2.5. Extraction de l'huile essentielle	41
IV.2.5.1. Entraînement à la vapeur (Extracteur pilote)	41
IV.2.5.1.1. Protocole expérimental	42
IV.2.5.1.2. Rendement de l'huile essentielle obtenue	42
IV.2.6. Extraction des polyphénols totaux	43
IV.2.6.1. Extrait méthanolique par sonication	43
IV.2.6.2. Extrait éthanolique par sonication	44
IV.2.6.3. Dosage des polyphénols	44
IV.2.6.3.1. Principe	44
IV.2.6.3.2. Protocole	45
IV.2.6.3.3. Expression des résultats	45
IV.2.7. Evaluation des activités biologiques de l'Aneth	45
IV.2.7.1. Activité antioxydante par piégeage de radical	45
IV.2.7.1.1. Principe	45
IV.2.7.1.2. Protocole	46
IV.2.8. Evaluation de l'Activité anti inflammatoire	47
IV.2.8.1. Principe	47
IV.2.8.2. Protocole expérimental	48
IV.2.9. Evaluation de l'activité antimicrobienne	50
IV.2.9.1. Principe	50
IV.2.9.2. Micro-organismes testés	50
IV.2.9.3. Protocole expérimental	51

Chapitre V : Résultats et interprétations

V.1.Eléments étrangers de à matière végétale	53
V.2. perte à la dessiccation	54
V.3.Screening chimique	54
V.4. Rendement d'extraction	55
V.5.Rendement d'extraction de l'huile essentielle	55
V.6.Dosage des polyphénols	56
V.7. Activité antioxydante	57
V.8.Activité anti-inflammatoire	61
V.9.Activité antimicrobienne	62

Chapitre VI : Discussion générale

Discussion générale	64
Conclusion générale	73
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction générale

Les plantes existent depuis plus longtemps que l'homme, et bien sûr elles seront les premières ressources à être exploitées à des fins médicinales. Dans les temps anciens, les humains ne connaissaient pas l'agent causal de la maladie, de sorte que l'utilisation des plantes comme matières médicinales est devenue le produit d'essais et d'erreurs, et finalement des plantes médicinales utiles ont été découverts. Les premières mentions de plantes utilisées en médecine remontent aux tablettes d'argile sumériennes, décrivant 12 recettes pour la préparation de médicaments, impliquant plus de 250 plantes, qui sont encore couramment utilisées aujourd'hui [1].

Au cours des dernières années, la recherche de nouvelles substances présentant des activités curatives est devenue une nécessité. À travers le monde, la médecine traditionnelle forme le mode principal de prestation de soin de santé ou un complément à ce dernier. En effet, l'OMS estime qu'environ 80% de la population africaine dépend encore de la médecine traditionnelle en réponse à leurs besoins de santé. Alors que, dans les pays industrialisés, c'est sous forme de thérapies complémentaires que les plantes sont utilisées. En Europe et en Amérique du Nord, plus de 50% de la population ont eu recours au moins une fois à des compléments alimentaires à base de plantes [2].

Il est connu qu'une plante peut contenir plusieurs milliers de substances différentes. Ces dernières tels les alcaloïdes, les composés phénoliques et les essences ne sont souvent que les produits secondaires (métabolites secondaires) de la plante. Ces produits sont généralement l'œuvre d'une réponse à des stimuli externes.

Les huiles essentielles et les extraits d'une large gamme de plantes aromatiques sont actuellement utilisés dans la conservation des aliments et en pharmacutique. A cet effet, les techniques d'extraction, séparation et détermination de la structure ont été développées pour comprendre la variation structurale et identifier les composés biologiquement actifs pour l'usage médicinal et l'élaboration des médicaments [3].

La flore Algérienne avec plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques dont 15% endémiques reste très peu explorée sur le plan phytochimique et pharmacologique.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans le présent travail à l'étude du profil phytochimique de l'aneth, *Anethum graveolens* L (*Apiaceae*) ainsi que les activités biologiques des extraits et de l'huile essentielle de cette plante.

A cet effet, le premier chapitre traite de la monographie de l'*Anethum graveolens* où après avoir donné quelques caractéristiques de la famille des *Apiaceae*, nous présenterons l'espèce, sa description botanique, ses propriétés pharmacologiques et ses différentes utilisations. Une synthèse des travaux réalisés sur cette espèce est aussi donnée dans ce chapitre.

Afin de permettre au lecteur de mieux appréhender notre travail, nous avons consacré le deuxième chapitre, aux définitions des huiles essentielles et des différents métabolites secondaires des plantes. Les propriétés de ces composés et les paramètres qui influent sur leur qualité sont aussi donnés.

Dans le troisième chapitre nous décrivons les activités biologiques abordées dans la présente étude à savoir les activités antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires.

Le matériel végétal et animal ainsi que les différentes méthodes utilisées dans notre travail sont décrits dans le Quatrième chapitre.

Après avoir présenté et interprété nos résultats dans le Cinquième chapitre, nous discuterons et comparons ces derniers avec d'autres travaux dans le sixième chapitre consacré à la discussion générale.

Chapitre I : Monographie de l'*Anethum graveolens*

I.1. Généralités sur la famille des Apiacées

Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères (reconnaissables par leurs inflorescences en ombelle) sont déjà bien diversifiées. Selon Watson & Dallwitz, elles comprennent environ 3000 à 3750 espèces et 300 à 455 genres [4]. Leurs plantes appartiennent à l'embranchement des Spermatophytes ou Phanérogames étant donné que ce sont des plantes à graines.

Ce sont des plantes herbacées, annuelles, bisannuelles, ou le plus souvent vivaces. Elles se répartissent dans les régions tempérées surtout dans l'hémisphère Nord. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres [5].

I.2. Importance économique des Apiacées

Les Apiacées sont plus souvent des plantes aromatiques. Elles sécrètent des huiles essentielles qui leur confèrent des odeurs et des saveurs caractéristiques, ce qui explique leur emploi à la fois comme aliment et condiment, et comme traitement en médecine traditionnelle.

Cette famille renferme de nombreuses plantes alimentaires et aromatiques: *Anethum graveolens* L. (l'aneth), *Apium graveolens* L. (le céleri), *Carum carvi* L. (le carvi), *Coriandrum sativum* (la coriandre), *Cuminum cyminum* (le cumin), *Daucus carota* (la carotte), *Foeniculum vulgare* (le fenouil), *Pastinaca sativa* L. (le panais), *Petroselinum crispum* (le persil) et *Pimpinella anisum* L. (l'anis) [6].

D'autres Apiacées sont utilisées comme additifs naturels dans l'industrie alimentaire, certaines espèces sont comestibles, telles que: *Daucus carota* (carotte), *Pastinaca sativa* (panais), *Foeniculum vulgare*, (fennugrec) [7].

Certaines espèces sont utilisées comme condiments ou épices, comme *Carum carvi* (cumin), *Anethum graveolens* (aneth), *Pimpinella anisum* (anis), *Petroselinum sativum* (persil), *Foeniculum vulgare* (fenouil) et *Coriandrum sativum* (coriandre). D'autres sont utilisées comme arômes pour les boissons, tel que *Angelica archangelica* (angélique), *Laserpitium gallicum* et plusieurs espèces d'*Heracleum*. Certains genres sont cependant très toxiques, comme *Conium maculatum* la grande ciguë, dont on dit qu'elle a été utilisée pour le suicide de Socrate, et *Cicuta virosa* (la ciguë vireuse) [8]. D'autres Apiacées ont fait l'objet d'étude pour leurs diverses activités biologiques notamment l'évaluation des activités antioxydante, antimicrobienne et anticoagulante des extraits végétaux [9].

I.3. Généralité sur l'espèce *Anethum graveolens*

Anethum graveolens L. ou Aneth, appartenant à la famille des *Apiaceae* (Ombellifères), probablement originaire de la Méditerranée orientale. C'est une herbe aromatique annuelle dont l'utilisation culinaire et médicinale est connue depuis l'Antiquité.

Le nom générique "*Anethum*" est dérivé du mot grec d'ano (vers le haut) et de theo (je cours), qui signifie la plante qui grandit rapidement [10], et *graveolens* signifiant en latin « L'odeur forte », composé de « gravis » (lourd, fort) et « olens » (sentant).

L'aneth est fréquemment cultivée pour ses propriétés favorables et thérapeutiques pour traiter divers problèmes de santé, tels que les troubles digestifs et les troubles de l'alimentation. En effet, son utilisation commune dans la médecine ayurvédique (médecines traditionnelles de l'Inde) est surtout contre le trouble digestif (inconfort abdominal et indigestion) [11,12].

Ses propriétés aromatiques et digestives étaient déjà bien connues chez les Égyptiens et les Grecs de l'Antiquité qui l'employaient également pour ses vertus antispasmodiques et sédatives. Les Romains décoraient les salles de banquets avec de l'aneth en fleurs. Au Moyen Âge, on portait sur la poitrine un petit sac d'aneth afin de se prémunir contre les

sorcières et le mauvais œil. Cependant, un peu partout dans le monde, on l'a principalement employée pour ses propriétés digestives [13].

Les graines d'aneth sont couramment utilisées dans les industries alimentaire et pharmaceutique, ainsi que dans la médecine traditionnelle pour traiter les problèmes gastro-intestinaux et les rhumatismes [14].

L'Aneth préfère un sol bien drainé, le plein soleil et tolère un pH compris entre 5,3 et 7,8. En raison de ses propriétés aromatiques, elle est utilisée pour aromatiser et pimenter divers aliments tels que les cornichons, les salades, les sauces et les soupes [12].

I.4.Description botanique de l'aneth

Anethum graveolens L (Figure 1.1) ou 'Fenouil bâtard' est une plante herbacée annuelle haute de 80 centimètres à 2 mètres.

Sa tige verte tendre est dressée, épaisse, creuse et striée longitudinalement de 40 à 100 cm. Plus ou moins ramifiée, elle porte de façon alterne des feuilles dont le pétiole est engainant (Figure 1.2).

La tige principale est glauque, cylindrique, ramifiée de manière dichotomique avec cinq à huit branches portant des feuilles tripennées en décomposition [15].

De forme bipennée, ses feuilles (Figure 1.3) présentent des folioles filiformes de couleur vert bleuté et dégagent une forte odeur d'anis au froissement.

L'aneth est une plante hermaphrodite qui fleurit de juin à septembre en ombelles terminales larges à peine bombées.

Ces ombelles sont formées d'autant d'ombellules d'apparence identique qu'elles présentent de rayons (15 à 40 rayons). Les ombellules sont constituées de petites fleurs jaunâtres présentant un calice gamosépale tubulaire cannelé et non denté (Figure 1.4), une corolle à 5 pétales repliés vers l'intérieur et d'un androcée de 5 étamines disposées en quinconce avec les pétales.

Les fruits sont normalement séparés en deux méricarpes, chacun ovoïde, comprimé, d'environ 3.5 à 4.5 mm d'épaisseur, avec trois bords longitudinaux de chaque côté et quatre vitae dorsales (Figure 1.5). Sur la surface plane de la commissure, il y a deux autres Vitae et un carpophore faible. Les racines sont pivotantes fusiformes de 10-15 cm de long. [16][17].



Figure 1.1 : Photo de l'*Anethum graveolens*
(Personnel)



Figure 1.2 : Tige de
l'aneth [18]



Figure 1.3 : Feuilles de l'aneth
(Personnel)



Figure 1.4: Fleurs de l'aneth (**personnel**)



Figure 1.5: Fruits de l'aneth[18]

I.5.Systématique de l'aneth

Selon ITIS(2018) le numéro de série taxonomique de l'*Anethum graveolens* est 29584

Nom accepté actuellement : *graveolens*

Autorité : Linn.

La systématique selon APG III :

Royaume	<i>Plantae</i> (plantes, Planta, Végétal, plantes)
Sous-royaume	<i>Viridiplantae</i> (plantes vertes)
Infra-royaume	<i>Streptophyta</i> (plantes terrestres)
Superdivision	<i>Embryophyte</i>
Division	<i>Tracheophyta</i> (plantes vasculaires, trachéophytes)
Subdivision	<i>Spermatophytina</i> (spermatophytes, plantes à graines, phanérogames)
Classer	<i>Magnoliopside</i>

Supercommande	<i>Asteranae</i>
Commande	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Anethum L.</i>
Espèce	<i>Anethum graveolens L.</i>

I.6. Appellations vernaculaires

L'appellation de l'aneth varie d'une langue à l'autre. Les noms, très connus de cette plante sont :

Français : aneth, Fenouil puant, ou encore Faux anis.

Anglais : dill ;

Italien : aneto ;

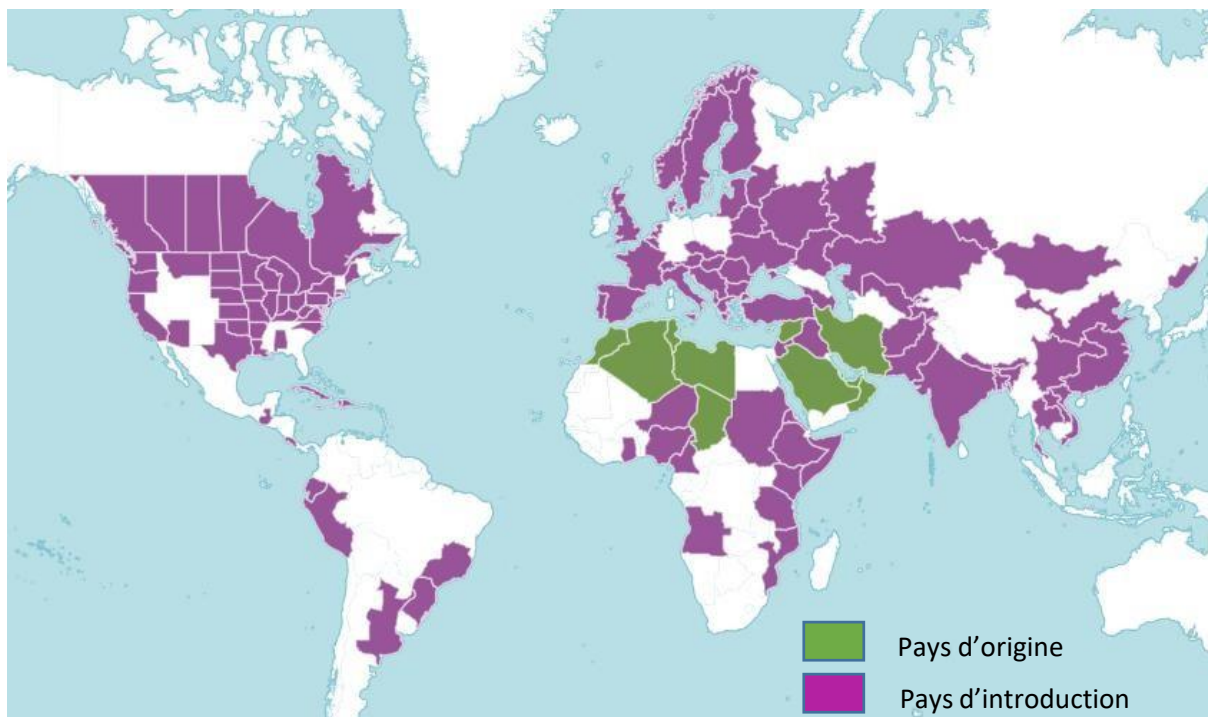
Espagnole : eneldo ;

Arabe : chibith ; شبت, Habbet Haloua

Hindi : surva, sowa

I.7. Répartition géographique de l'Anethum

L'origine de l'aneth n'est pas bien connue ; on suppose qu'elle est originaire de la Méditerranée et de l'Asie du Sud et du Sud-Ouest où elle se trouve à l'état spontané. Aujourd'hui, elle est cultivée, partout dans le monde (Figure1.6). L'aneth s'est même naturalisé dans certains endroits.



Source(<https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:837530-1#distribution-map>)

Figure1.6 : Répartition de l'aneth (*Anethum graveolens*) dans le monde

1.8. Utilisation de l'Anethum graveolens

On retrouve le nom de l'aneth mentionné dans les utilisations médicinales, dans un papyrus égyptien vieux de 3000 ans. Le médecin grec DISCORIDE en faisait un tel usage que l'on surnommait l'aneth " la plante à Discoride ". Les Romains mâchaient les graines de l'aneth pour rafraîchir l'haleine et faciliter la digestion.

Les médecins chinois l'utilisent depuis au moins 1000 ans pour les problèmes d'estomac. Même dans une traduction des passages et chapitres consacrés à l'odontostomatologie, de la grande chirurgie, ouvrage composé par Guy de Chauliac en 1363, il est signalé l'emploi de l'aneth contre la douleur de dent [19 ; 20].

En Europe de l'Est et dans les pays slaves, l'aneth est largement utilisée dans les cornichons pour empêcher la croissance bactérienne dans les aliments transformés. Le cornichon à l'aneth demeure d'ailleurs un classique à cet égard.

Sa concentration élevée en carvone et myristicine rend l'aneth efficace pour soulager les spasmes intestinaux et les coliques. Elle convient mieux aux enfants que l'anis ou le fenouil comme calmant et préparant au sommeil [20 ; 21 ; 22].

L'*Anethum* est utilisée comme ingrédient de l'eau de grippe, administrée pour soulager les coliques des bébés et les flatulences des jeunes enfants. [23].

Son huile essentielle s'oppose à la croissance de certains germes tels que les lactobacilles, le colibacille et *Escherichia coli*. Elle peut donc prévenir certaines diarrhées infectieuses.

L'*Anethum graveolens* a été largement utilisée en cuisine et pour préserver la fraîcheur des aliments. Les feuilles d'aneth fraîches ou séchées, sont employées pour aromatiser différentes préparations culinaires, elles donnent du « sel » aux salades, aux soupes ainsi qu'aux poissons et aux moutons. Les fleurs aromatisent les plats de concombres ou de carottes et décorent les veloutés. Les graines sont utilisées entières ou pilées pour épicer les poissons grillés ou fumés, les marinades, les grillades et les sauces [20 ; 22].

I.9. Travaux antérieurs sur l'aneth

I.9.1. Travaux sur l'huile essentielle d'aneth

La composition chimique de l'huile essentielle d'aneth est directement liée à la partie d'où elle a été extraite (graine, feuilles ou fruit). L'emplacement de la plante et la méthode de culture influent sur la composition chimique [20] .

Le tableau (1.1) ci-dessous regroupe les composés majoritaires trouvés dans les huiles essentielles de l'espèce étudiée, extraites à partir de différentes parties de la plante et analysées par CG/MS.

Tableau (1.1) : Composés majoritaires dans l'huile essentielle d'aneth selon dans différents travaux

Auteurs	Pays	Organe d'extraction	Composés majoritaires
V.Rădulescu & al 2010 [24]	Roumanie	fleurs	α -Phellandrene 30.26% Limonène 33.22% Dill Ether 16.42 %
A.Mahmoodi & al 2012 [25]	Iran	graines	Carvone (36.9 %) Limonène (19.89%) Dihydrocarvone (6.59%) Dill apiol (16.83%) E-Dihydrocarvone (7.36%)
M. Ramadan & al (2013) [26]	Egypte	fruits	Carvone 14.28% Limonène 13.9% 7- α -hydroxy manool 24,43% α -bisabolol 6,81% α -terpinène 5,44%
A. Al-snafi 2014 [27]	Iraq	fruits	Carvone 30 - 60% Limonène 33% α -Phellandrène 20, 61%
Z.Benzina-Tifouri (2018-2020) [28]	Algérie (Mohammadia)	plante entière	Limonène 27.17% Sabinène 16.64% Dillapiole 8.16% o-cymène 6.34%

A. Activités biologiques de l'HE de l'aneth

L'huile essentielle de *L'Anethum graveolens* possède un large spectre d'activités biologiques.

Le traitement des rats avec des quantités variables d'aneth a entraîné des réductions significatives des niveaux de cholestérol total (CT) et triglycérides (TG) et LDL-C. Il a également montré que le traitement avec différentes fractions d'aneth réduisait significativement la peroxydation lipidique et augmentait l'activité des systèmes antioxydants chez les rats traités avec un régime riche en graisses [29].

Par ailleurs, Hussein et al. (2015) [30] ont examiné l'HE d'aneth, distillée individuellement à partir d'herbes fraîches aux stades végétatif de floraison et les graines séchées à l'air tout au long du stade de fructification. Ils ont montré une bonne activité antibactérienne.

L'étude de Khani et BasavandV[31] a démontré la toxicité de l'huile essentielle de graines d'aneth contre deux insectes, *Tribolium confusum* et *Callosobruchus*, qui attaquent le produit stocké, par la méthode de la toxicité fumigène. Une différence considérable dans la mortalité des insectes due à la vapeur d'HE et aux temps d'exposition a été observée.

9.2. Travaux sur les extraits de l'*Anethum graveolens*

L'analyse phytochimique qualitative de l'extrait de l'aneth réalisée par G. Jeet kaur et D.Arora [32] a montré la présence d'alkaloïdes, flavonoïdes, de tanins, de saponines et de glycosides cardiaques avec des valeurs différentes représentées dans le tableau (1.2) ci-dessus.

Les teneurs en phénols et en flavonoïdes totaux de l'extrait d'*Anethum graveolens* L. étaient de 105,2 mg d'équivalents d'acide gallique/g d'extrait sec.

Tableau1.2:Teneurs en métabolites secondaires de l'aneth [32]

Plants	Alcaloïdes	Flavonoïdes	Tannins	Saponins	Glycosides
<i>A. graveolen</i>	2.8 ± 0.10	11.05 ± 0.07	19.71 ± 0.28	0.55 ± 0.04	ND

ND : non définie

Une synthèse des résultats de différents travaux sur Les métabolites secondaires des extraits de l'aneth est présentée dans le tableau 1.3.

Tableau 1.3 : Les métabolites secondaires dans l'extrait d'aneth

L'étude	Organes d'extraction	Substances trouvées
Michal & al 2008(Pologne) [33]	plante entière	Acide caféique, Acide chlorogénique, Quercétine, Kaempferol, Isorhamnetin
A. Al-snafi 2014[27]	fruits	Furanocoumarin,5-(4''- hydroxy-3''methyl-2''-butenyloxy)-6,7furocoumarin,d'acide gallique, catéchine
Melida & al 2015 (Romania) [34]	plante entière	Acide gallique, Quercétine
Kerrouri &al 2017 (Maroc)[35]	racines	Acide gallique, Quercétine

Dahdouh et Boudiaf [36] ont trouvé des teneurs différentes de polyphénols et des flavonoïdes dans les différentes parties d'aneth cultivée en Algérie. La teneur des polyphénols pour les feuilles et les fleurs en $\mu\text{g AG}/\text{mg}$ du poids sec est respectivement de $191,85 \pm 0,18$ et $224,07 \pm 0,12$, par contre la présence de ces derniers est moindre dans les tiges et les fruits avec des valeurs respectives de $103,33 \pm 0,08$, $91,85 \pm 0,04$. Pour les flavonoïdes les taux sont comme suit : Feuilles $13,88 \pm 0,01 \mu\text{g EQ}/\text{mg ext}$; Tiges $27,24 \pm 0,006 \mu\text{g EQ}/\text{mg ext}$; Fleurs $12,52 \pm 0,02 \mu\text{g EQ}/\text{mg ext}$; Fruits $4,46 \pm 0,05 \mu\text{g EQ}/\text{mg ext}$.

Souri & al [37] ont découvert que l'extrait d'aneth avait une activité antioxydante comparable à celle du dl-alpha-tocophérol et de la quercétine.

Panda & al [38] ont évalué le rôle de l'extrait de feuilles d'aneth dans le contrôle du diabète de type 2 induit par les corticostéroïdes chez les rats femelles. Le traitement avec l'extrait de feuilles d'aneth a diminué la concentration d'insuline et de glucose sérique. Satyanarayana [39] a trouvé dans sa recherche que l'activité antioxydante de l'aneth s'est avérée supérieure à celle de l'acide ascorbique.

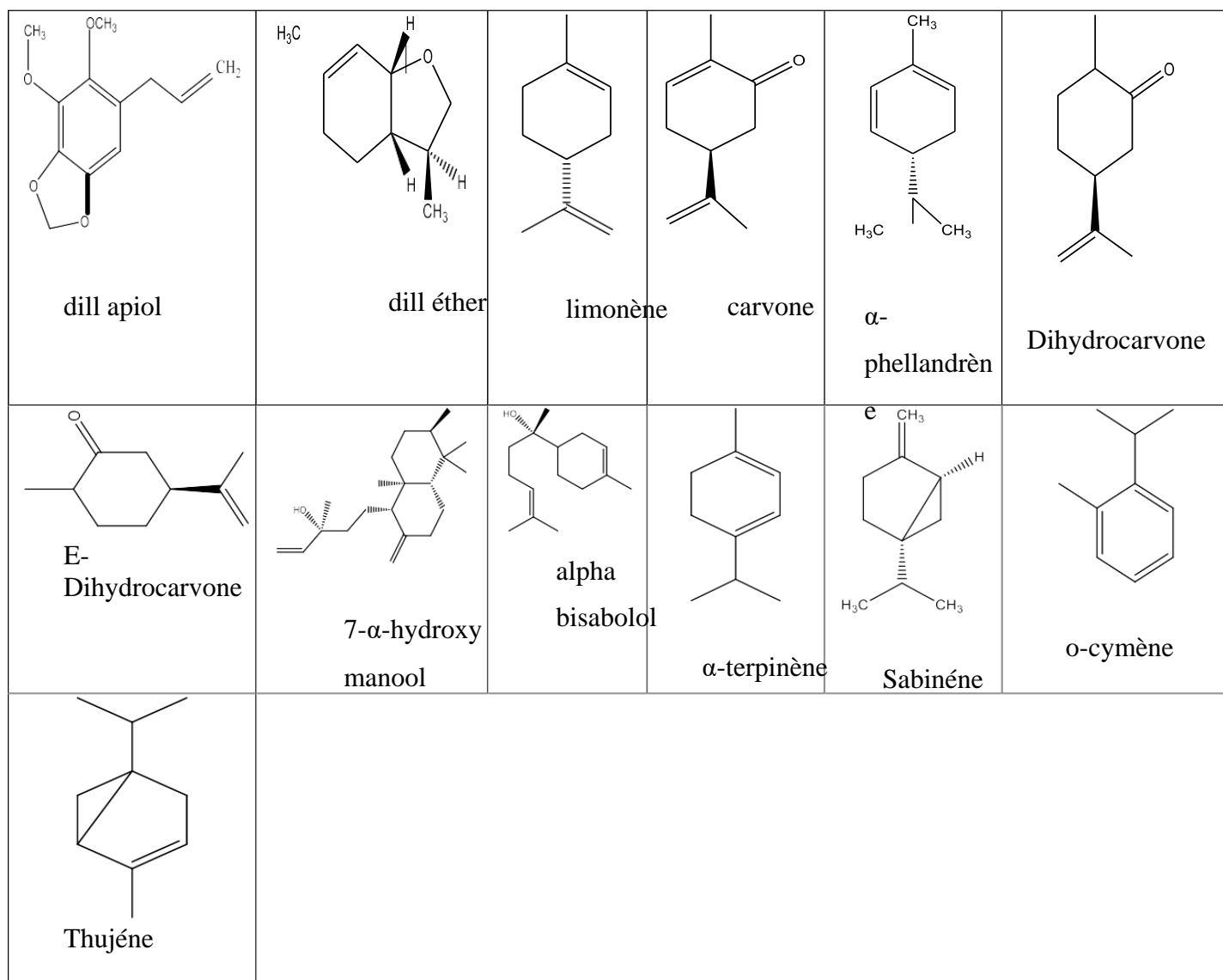


Figure 1.7 : Les composés majoritaires de l'huile essentielle d'*Anethum graveolens*.

Chapitre II : Généralités sur les métabolites secondaires

II.1 Les huiles essentielles

II.1.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances liquides, odorantes, volatiles, offrant une forte concentration en principes actifs [40]. Elles sont les résultats du métabolisme secondaire des plantes aromatiques [41], qui représente l'essence de la plante, autrement dit son parfum [42]. Les HE ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers. Elles ont donné naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie [43].

Les huiles essentielles sont obtenues à partir de divers parties de plantes aromatiques telles que les fleurs, les bourgeons, les graines, les feuilles, les branches, les herbes, le bois, les fruits et les racines.

La norme AFNOR NF T-75-006 [44] définit les huiles essentielles comme : "Produits obtenus à partir de matières premières végétales par entraînement à la vapeur ou hydro distillation. Les huiles essentielles sont ensuite séparées de la phase aqueuse par un procédé physique". L'huile ainsi obtenue possède certaines propriétés physico-chimiques qui peuvent être mesurées en laboratoire à l'aide de techniques simples ou d'équipements plus complexes.

II.1.2. Localisation des huiles essentielles dans les plantes

Les huiles essentielles peuvent être trouvées dans tous les organes de la plante : fleurs (*Ferulago angulata*), feuilles (*Torilis arvensis*), bien que d'apparence inhabituelle, dans : racines (*Heracleum persicum*), rhizomes (*Zingiber officinale*), bois (*Santalum album*), écorce (*Cinnamomum verum*), fruit (*Daucus carota*) ou graine (*Daucus carota*) [45].

Si tous les organes d'une même espèce contiennent une huile essentielle, la composition de cette dernière varie selon sa localisation [46]. Dans la plupart des cas, les huiles essentielles se forment dans le cytosol de la cellule, où elles s'agrègent en gouttelettes comme la plupart

des substances lipophiles, ou s'accumulent dans les vacuoles de la cellule épidermique ou les cellules du mésophile de nombreux pétales. Selon les périodes, ces essences traversent la paroi cellulaire vers l'extérieur de la cuticule sous forme de vapeur.

Considérées comme des produits du métabolisme secondaire des plantes [47], les huiles essentielles d'après Svoboda [48] sont produites et stockées dans des structures cellulaires spécialisées, ces structures sont divisées en deux groupes :

- Celles qui produisent l'huile essentielle sur la surface de la plante et qui sécrètent habituellement des substances directement à l'extérieur de la plante (sécrétion exogène).
- Celles qui produisent les huiles essentielles dans le corps de la plante et sécrètent ces substances dans les espaces intercellulaires spécialisés (sécrétion endogène)

II.1.3. Influence des conditions écologiques sur la quantité et la qualité d'HE

La composition chimique, la qualité et la quantité extraite d'une huile essentielle dépendent de plusieurs paramètres. Les principaux facteurs de variabilité de cette composition sont d'origine intrinsèque et extrinsèque: le génotype, l'environnement, l'origine géographique, la période de récolte, la température et la durée de séchage ainsi que le mode d'extraction [49].

Le premier paramètre affectant une composition phytochimique est sa biosynthèse, et donc ses caractéristiques génétiques. C'est pourquoi une même espèce peut présenter plusieurs chémotypes aux caractéristiques chimiques différentes.

Il existe de nombreux exemples de ce phénomène, notamment dans le thym, la sauge, etc. [50 ; 51].

Pour une même espèce, un même génotype et un même stade de développement, des facteurs externes vont entraîner des changements quantitatifs et qualitatifs évidents dans les huiles essentielles. De nombreuses études l'ont confirmé [52 ; 53]. Elles notent que les facteurs

extrinsèques les plus importants affectant la production d'huiles essentielles sont le climat (température et lumière) et le sol (eau et fertilisants) [43].

Les conditions environnementales influencent aussi la composition. La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la pluviométrie et les conditions édaphiques (composition du sol) représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée [54 ; 55].

II.1.4. Propriétés physiques d'HE

Les HE sont en général liquides à température ambiante, volatiles, d'odeurs très forte, incolores, jaunes pâles ou quelques fois bleues. Leur densité est <1 sauf pour les HE de clou de girofle, cannelle et sassafras. Elles sont insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques et dans les alcools titre alcoométrique élevé, elles s'oxydent au contact de l'air et de la lumière [56].

Elles sont douées d'un pouvoir rotatoire puisqu'elles sont formées principalement de composés asymétriques.

II.1.5. Composition chimique d'HE

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants hétérogènes pouvant contenir plus de 300 composés différents [57]. Ils appartiennent de façon exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des aromatiques et des aliphatiques (alcane, alcène, alcène, alcène, phénols etc...).

a) Composés terpéniques

Ce sont les composés formés de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques.

b) Les composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés odorants (phényl-propanoïdes) dont la biogénèse est différente de celle des terpènes [58]. Comme les aldéhydes, les phénols et

les coumarines ainsi que les composés acycliques telles que les acides organiques à faible poids moléculaire.

II.1.6. Toxicité des huiles essentielles

Le caractère d'une huile essentielle correspond à celui de la plante dont elle est tirée. Sa toxicité est d'autant plus importante que sa concentration est forte. De nombreuses précautions doivent être prises avant tout emploi et surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe.

En général, chez l'homme, l'ingestion de 10 à 30 ml d'HE peut être mortelle. Aux doses plus faibles, on note des troubles digestifs, d'hypotension, d'hypothermie et une confusion mentale [43].

II.2. Les métabolites secondaires

Les plantes sont le siège d'une activité métabolique intense conduisant à la synthèse de divers principes actifs. Ce processus métabolique est lié aux conditions de vie de la plante (l'interaction des plantes avec leur environnement) qui doit faire face aux multiples agressions environnementales dans lesquelles elle vit: prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. Il est donc concevable que les plantes puissent développer un métabolisme particulier leur permettant de synthétiser diverses substances pour se protéger. Ce dernier adopte la nomenclature des métabolites secondaires [59].

Les métabolites secondaires des plantes comptent aujourd'hui plus de 100 000 substances identifiées, appartenant à trois grandes classes chimiques : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques.

D'un point de vue applicatif, ces molécules constituent souvent la base des principes actifs des plantes médicinales. L'évaluation de la valeur thérapeutique de ces métabolites fait

l'objet de nombreuses recherches et amène à l'identification des principaux éléments actifs de la plante [60].

II.2.1. Les composés phénoliques

Les polyphénols (Figure 2.1) sont des métabolites secondaires présents chez toutes les plantes vasculaires [62]. Ils constituent un des groupes le plus nombreux et largement distribués des substances dans le royaume des végétaux avec plus de 8000 structures phénoliques présentes dans tous les organes de la plante (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois). Ils résultent bio génétiquement de deux voies synthétiques principales : la voie shikimate et acétate [63].

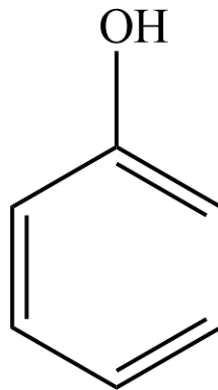


Figure 2.1 : Structure de base des phénols

Chez les végétaux : Les composés phénoliques participent à deux principaux processus de l'activité des plantes : la photosynthèse et la respiration. De plus, ils interviennent dans d'autres processus tels que : la croissance, la germination, la morphogénèse des tiges et dans le processus de lignification [64].

II.2.2. Les tanins

Les tanins (Figure 2.2) sont des composés phénoliques solubles dans l'eau ayant des poids moléculaires élevés compris entre 500 et 3000 m.mol [65]. Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir à cause de l'absence de structure chimique de base. Ils sont des molécules hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, protéines et enzymes digestives.

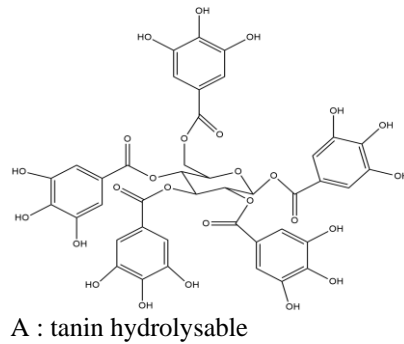


Figure 2.2: Structure de base des tanins

Les tanins ont une importance économique et écologique considérable et sont responsables de l'astringence de nombreux fruits et légumes et des produits qui en sont dérivés.

Toutes les plantes contiennent des tanins mais à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation soit pour les insectes ou le bétail [66].

II.2.3. Les alcaloïdes

Le terme alcaloïde a été introduit par W. MEISNER au début du XIX^e siècle pour désigner les substances naturelles réagissant comme des bases, comme des alcalis (de l'arbre al kay, la soude et du grec eidos, l'aspect).

Les alcaloïdes (Figure 2.3) sont des molécules avec des structures chimiques souvent très complexes (contenant le carbone, l'hydrogène et souvent l'oxygène) et leur voie de biosynthèse parfois est encore mal connue. Ils possèdent souvent des propriétés pharmacodynamiques remarquables, qui les font utiliser comme médicaments ou produits de base dans l'industrie pharmaceutique.

Les alcaloïdes sont utilisées dans plusieurs médicaments, ils affectent chez l'être humain le système nerveux particulièrement les transmetteurs chimiques tels l'acétyl choline, norepinephrine , acideγaminobutyrique (GABA), dopamine et la serotonine d'autres effets pharmacologiques sont attribués également aux alcaloïdes tels que l'effet analgésique (cocaïne), anti-cholinergique (atropine), anti-malaria (quinine), antihypertensive (résérpine), antitussive (codéine), stimulant centrale (caféine), dépressant cardiaque et diurétique narcotique (morphine), anti-tumeur et sympathomimétique (éphédrine) [67].

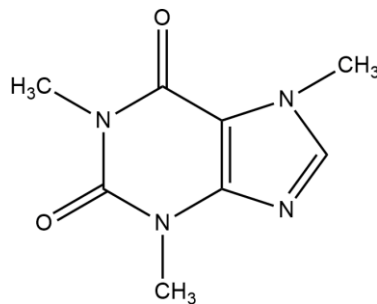


Figure2.3 : Structure de base des alcaloïdes

II.2.4. Les coumarines

Les coumarines dérivent des acides hydroxycinnamiques par cyclisation interne de la chaîne latérale (Figure2.4). Ils sont des hétérocycles oxygénés ayant comme structure de base le benzo-2-pyrone. Vogel en 1820 a fait le premier isolement des coumarines, alors qu'aujourd'hui il y'a près de 1000 composés isolés, dans plus de 800 espèces de plantes et dans les microorganismes [68].

Les coumarines constituent l'une des grandes classes de composés d'origine naturelle, leur intérêt est grandissant en raison de leur utilité en tant qu'agents biologiquement actifs.

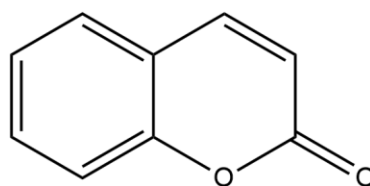


Figure 2.4 : Structure de base des coumarines

Ils sont connus par leurs activités cytotoxique, antivirale, immunostimulante, tranquillisante, vasodilatatrice, anticoagulante (au niveau du cœur), hypotensive, antimicrobienne, anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétiques, anti-œdémateuses et analgésique [69].

II.2.5. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes (Figure2.5) sont des métabolites secondaires végétaux, ils constituent un des plus vastes groupes des polyphénols naturels et présentent un large champ d'activités biologiques. Aussi bien chez les animaux que chez les végétaux [70]. Ce sont des pigments quasi universels des végétaux presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration de nombreux fruits, légumes, fleurs, et parfois des feuilles assurant ainsi la protection des tissus contre les ultraviolets [71].

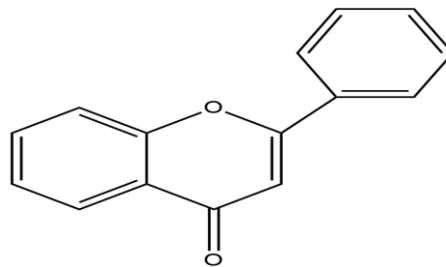


Figure2.5 : Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques. Ces dernières sont attribuées en partie, aux propriétés anti-oxydantes de ces composés naturels. Car les flavonoïdes sont susceptibles de réagir avec la plupart des espèces réactives oxygénées [72].

II.2.6. Les quinones

Les quinones (Figure2.6) sont des composés benzéniques qui portent deux atomes d'hydrogène du noyau qui sont remplacé par deux atomes d'oxygène. Elles sont ré pondues chez les plantes (fleurs), les champignons et les algues. [73]

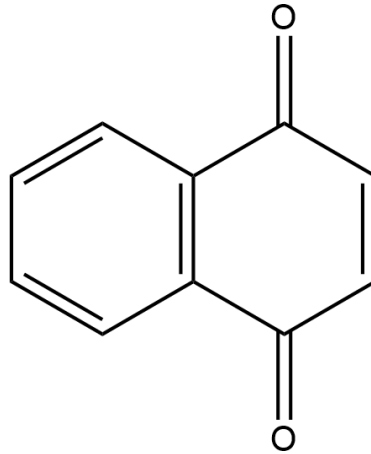


Figure 2.6: Structure de base des quinones

II.2.7. Les glucosides

Un glucoside (Figure 2.7) est une substance d'origine végétale. Elle est en effet présente dans de nombreux végétaux. Il s'agit d'une molécule dite hétéroside.

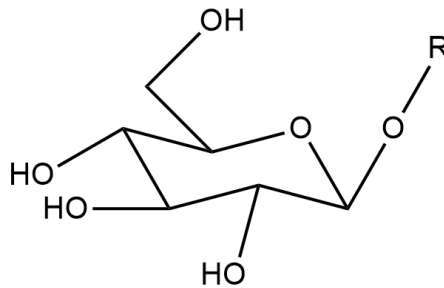


Figure 2.7 : Structure de base des glucosides

La présence de glucosides est fréquente chez les plantes, mais rare chez les animaux. Le glucose est produit lorsqu'un glucoside est hydrolysé chimiquement ou décomposé par

Chapitre III : Les activités biologiques

III.1. Activité antioxydante

L'oxydation est un processus biochimique dans lequel le corps produit des radicaux libres, qui sont des produits chimiques neutres ou chargés, instables, qui ne cherchent qu'à récupérer des électrons de leur environnement pour revenir à un état plus stable.

Elle peut entraîner des modifications ou une perte d'activité biologique moléculaire, ce qui conduit parfois à une désorganisation cellulaire irréversible, conduisant à la mort cellulaire. L'oxydation affecte l'ADN ou des parties du système de traduction ou de transduction.

Les radicaux libres sont définis comme des molécules ou des atomes avec de nombreux électrons non appariés, ce qui les rend extrêmement réactifs [74].

III.1.1. Les antioxydants

III.1.1.1. Définition

Le terme "antioxydant" a été exprimé comme "une substance qui, à de faibles concentrations, en présence d'un substrat oxydable, ralentit ou empêche de manière significative l'oxydation d'un substrat matériel"[75]. Les antioxydants sont des substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettant le maintien de concentrations non cytotoxiques d'ROS au niveau cellulaire. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non enzymatiques, endogènes ou exogènes [76].

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et leur destruction par les systèmes de défense antioxydants [77]. Le stress oxydatif se définit également comme un déséquilibre entre le niveau de production de radicaux libres et les défenses antioxydantes de l'organisme en faveur des premiers [78].

L'accumulation d'espèces réactives de l'oxygène entraîne des dommages cellulaires et tissulaires souvent irréversibles, les cibles biologiques les plus vulnérables étant les protéines, les lipides et l'acide oxyribonucléique [79].

III.1.1.3. Activité de piégeage du radical libre DPPH

Les méthodes de piégeage des radicaux libres sont considérées comme la principale méthode d'évaluation du potentiel antioxydant des composés, d'extraits ou d'autres sources biologiques.

Il s'agit de la méthode la plus simple dans laquelle un composé ou un extrait est mélangé à une solution de DPPH et l'absorbance est évaluée après un temps spécifié.

Le DPPH est caractérisé par des radicaux libres stables (électrons non appariés sur des atomes de pont d'azote). Du fait de cette délocalisation, les molécules de radicaux libres ne forment pas de dimères, le DPPH• conserve sa forme monomérique relativement stable à température ambiante, et cette délocalisation produit une couleur violet foncé mesurable à environ 520 nm en solution éthanolique détectée par spectrophotométrie. [80].

III.2. Activité antibactérienne

Le règne végétal constitue un domaine de recherche potentiel. En effet, les plantes supérieures produisent des métabolites secondaires biologiquement actifs. Ces métabolites font souvent partie des mécanismes de protection propres à la plante contre les phytopathogènes [81].

Les antimicrobiens sont une famille de substances qui tuent (microbicide) ou ralentissent (microbiostatique) la croissance des microbes tels les bactéries (activité antibactérienne), les mycètes (activité antimycosique), les virus (activité antivirale), ou les parasites (activité antiparasitaire) [82].

III.2.1. Définition des bactéries

Les bactéries sont des micro-organismes unicellulaires classés parmi les procaryotes, car elles ne possèdent pas de membrane nucléaire.

Elles sont divisées en bactéries proprement dites (*Bacteria*) et bactéries primitives (*Archaea*). Toutes les bactéries rencontrées en pathologie appartiennent aux *Bacteria*.

Les bactéries ont généralement un diamètre inférieur à 1 μm . On peut les voir au microscope optique, à l'état frais ou après coloration. Leur forme peut être sphérique (cocci), en bâtonnet (bacilles), incurvée (vibrions) ou spiralée (spirochètes). Les détails de leur structure ne sont visibles qu'en microscopie électronique [83].

III.2.2. Description des souches bactériennes utilisées

1. *Escherichia coli*

Escherichia coli (Figure 3.1) est un bacille Gram négatif [84] non sporulant, anaérobie facultatif, et du fait des flagelles généralement mobiles, sa longueur varie de 2 à 6 microns et sa largeur est de 1,1 à 1,5 microns [85].



Figure3.1 : Photo d'*Escherichia coli* [86]

E. coli est la bactérie responsable de 75 à 80 % des infections urinaires. D'autres souches appartenant à la flore commensale peuvent provoquer diverses infections opportunistes, notamment chez les sujets aux défenses immunitaires affaiblies [84].

2. *Staphylococcus aureus*

Les espèces *Staphylococcus aureus* (Figure 3.2) sont des *cocci* à Gram positif, de forme sphérique, avec un diamètre de 0.8 à 1 μm . Elles sont regroupées en diplocoques ou en petits amas (grappe de raisin). Ce type de bactéries sont immobiles, asporulés, habituellement sans capsule [84].



Figure 3.2 : Photo de *Staphylococcus aureus* [86]

Ces bactéries sont au premier rang des germes responsables d'infections nosocomiales (infections contractées à l'hôpital).

3. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa (Figure 3.3) est un bacille à Gram négatif non fermentant, aérobic strict, non sporulé, fin, mobile grâce à une ciliature polaire. Sa culture est aisée, entre 10 °C et 42°C, sur des milieux ordinaires [87].



Figure 3.3 : Photo de *Pseudomonas aeruginosa* [86]

P. aeruginosa est une bactérie opportuniste peu ou pas virulente chez l'individu sain mais qui peut s'avérer redoutable chez les sujets dont l'immunité est affaiblie. Son génome, un des plus grands (6,3 millions de paires de bases) parmi ceux des espèces bactériennes d'intérêt médical. Cette bactérie à Gram négatif émerge comme un agent pathogène majeur de chez l'homme [87 ; 88].

4. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis, une bactérie à Gram positif ubiquitaire du sol. Cette bactérie possède l'avantage d'avoir un génome entièrement séquencé, et est facile à manipuler génétiquement, ce qui favorise la compréhension des gènes impliqués dans la formation de biofilm [88].



Figure 3.4 : Photo de *Bacillus subtilis* [86]

Inoffensive pour l'homme, elle peut servir de modèle d'étude pour les bactéries pathogènes faisant partie du même groupe, comme *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus pneumoniae* ou *Listeria monocytogenes* ; elle produit des enzymes intéressantes pour l'industrie, dont une amylase servant à la fabrication industrielle du pain .

5. *Candida albicans*

Candida albicans est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*.

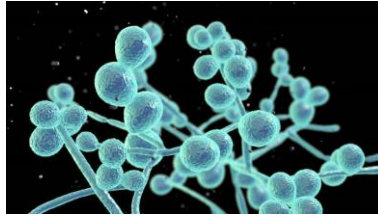


Figure 3.5 : photo de *Candida albicans* [86]

Ce champignon pathogène provoque des infections fongiques (*candidiase* ou *candidose*) essentiellement au niveau des muqueuses digestive et gynécologique. Les candidoses sont une cause importante de mortalité chez les patients immunodéprimés comme les patients atteints du sida, les patients cancéreux sous chimiothérapie ou après transplantation de moelle osseuse [83].

III.3. Activité anti-inflammatoire

III.3.1 Définition de l'inflammation

La réponse inflammatoire est une réponse adaptative engendrée en réponse à des stimuli nocifs telle qu'une infection ou une agression tissulaire. Elle nécessite une régulation fine, généralement bénéfique, elle conduit à l'élimination d'éventuels pathogènes et au retour à l'homéostasie du tissu lésé.

La réponse inflammatoire se déroule en quatre étapes : la reconnaissance des signaux de danger, le recrutement de cellules sur le site d'infection, l'élimination du pathogène et la résolution de l'inflammation conduisant à un retour à l'homéostasie et à la cicatrisation du tissu lésé [89].

III.3.2. Causes de l'inflammation

Les causes de l'inflammation sont nombreuses et variées :

- Exogène :
 - a) Micro-organismes : bactéries, virus, parasites, champignons ;
 - b) Les agents physiques : rayonnements, les traumatismes, les fluctuations de température – chaleur ou froid ;

- c) Des agents chimiques exogène ou endogène ;
 - L'hypoxie
 - L'acidose
- Endogène (auto-immunité, tumeur, infarctus) :
 - a) Cellules tumorales tuées
 - b) Cristaux formés dans l'organisme (acide urique)
 - c) Les réactions immunitaires [90].

III.3.3. Les Anti-inflammatoires

Il s'agit d'un groupe de médicaments destinés à traiter une réaction inflammatoire et les maladies qui en résultent telles que les manifestations rhumatismales, les fractures, les stomatites et les lésions génitales et urinaires. Les anti-inflammatoires sont des substances qui agissent sur l'enflure et la douleur [90].

Dans les allopathies, des anti-inflammatoires stéroïdiens (cortisone et dérivés) ou non stéroïdiens (AINS), notamment l'aspirine, sont prescrits selon les cas. Leur principal inconvénient est une mauvaise tolérance digestive et de nombreuses contre-indications.

Chapitre IV: Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé au niveau des laboratoires du centre de recherche et de développement (CRD) du groupe SAIDAL (Gue de Constantine).

L'objectif de notre étude est la valorisation de *l'Anethum graveolens* et les métabolites secondaires présents dans, ainsi que leurs activités biologiques (anti-inflammatoire, antibactérienne, antioxydante)

La démarche globale de notre travail (Figure 4.1) s'articule autour de trois produits issus de notre plante *l'Anethum graveolens* (Infusé, extraits méthanoliques et éthanoliques et l'huile essentielle). L'infusé a fait l'objet d'un screening phytochimique suivi d'une étude de son effet anti-inflammatoire.

Pour l'extrait nous avons étudié les activités antimicrobiennes et antioxydantes ainsi que le dosage des polyphénols totaux.

Enfin pour l'huile essentielle de l'aneth, nous avons testé son activité antimicrobienne.

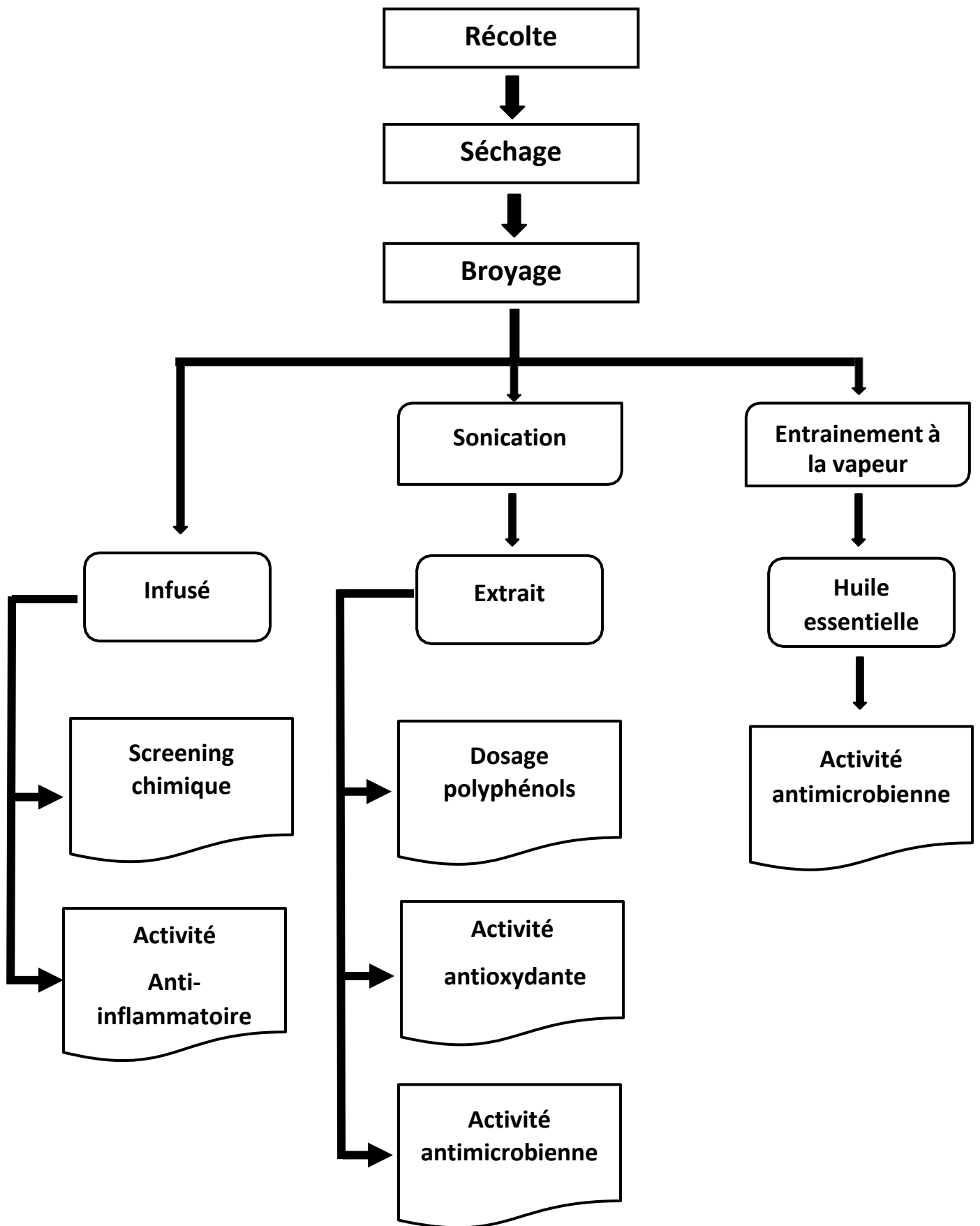


Figure 4.1 : Démarche méthodologique globale

IV.1. Matériel

Le matériel de laboratoire utilisé au cours du présent travail notamment la verrerie, les appareils et les solutions chimiques, sont cités en (**annexes 1, 2**).

IV.1.1. Matériel biologique

a) Matériel végétal

Pour notre étude, nous avons retenu comme matériel végétal, l'aneth (*Anethum graveolens*), espèce spontanée annuelle, aromatique qui évolue souvent dans les champs agricoles, on la trouve aussi dans les bordures des routes.

L'identification de la plante a été faite au niveau du département de Foresterie et Protection de la Nature de l'école Nationale Supérieure Agronomique (ENSA, El Harrach).

Nous soulignons que nous n'avons utilisé que la partie aérienne de cette plante avec ses différents organes à savoir la tige, les feuilles et les fleurs (Figure 4.2). La partie souterraine (racines) n'a pas fait l'objet du présent travail.

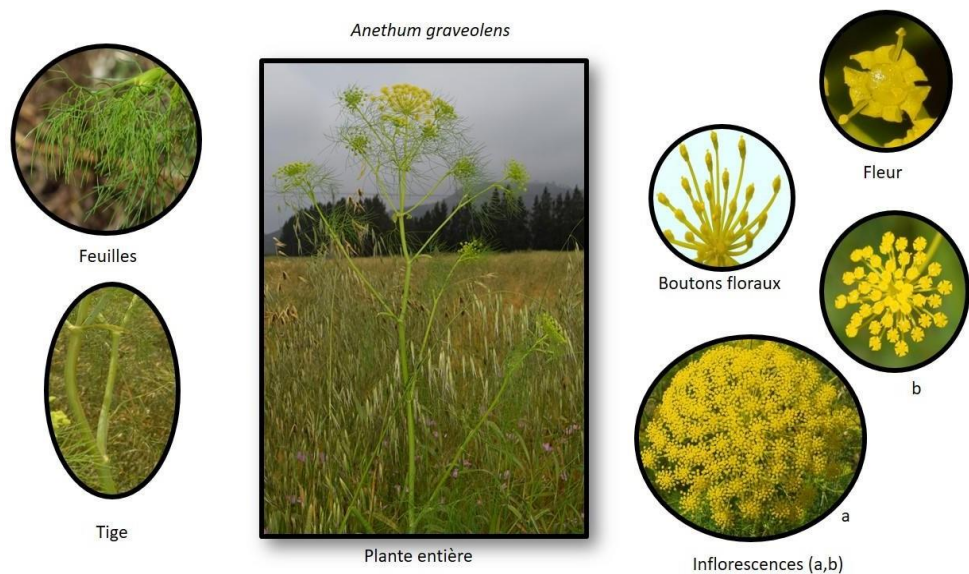


Figure 4.2 : Présentation de l'aneth et ses différents organes

b) Matériel animal**Tableau 4.1 :** Caractéristiques des souris utilisée pour l'activité antiinflammatoire

Etude	Animal	sexe	Poids	Nombre	Alimentation	Condition d'hébergements
Activité anti-inflammatoire	Souris albinos	Male/femelle	23-26g	25 Souris répartie en 5 lots	Granulés, eau de villes	20-24°C Eclairage 10h/24h

Les souches microbiennes utilisées (tableau 4.2) pour évaluer l'activité antimicrobienne d'*Anethum graveolens* sont des souches internationales ATCC (American type culture collection).

Tableau 4.2 : Souches bactériennes utilisées pour l'activité antimicrobienne

Nom de la souche	N° ATCC	Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-
<i>Escherichia coli</i>	4157	-
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+
<i>Candida albicans</i>	24433	/

Les milieux de culture

Les milieux de culture utilisés pour réaliser les tests microbiens sont les suivants :

- La gélose nutritive pour l'isolement et l'entretien des souches bactériennes.
- La gélose Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des bactéries vis-à-vis l'huile essentielle et les extraits.
- La gélose Sabouraud pour l'isolement et l'entretien des levures.

IV.1.2. Présentation et choix du site de récolte

Après plusieurs prospections de terrain (Jijel, Constantine, Cherchell, Zeralda, Blida) à la recherche de notre plante, nous avons retenu comme lieu de récolte la région d'Ahmar-El-Ain dans la Wilaya de Tipaza au niveau d'un jeune verger fruitier (nectarinier) à 20 km du chef-lieu de cette commune (Figure 4.3).

Le choix de cette station de récolte (36° 30.153'N, 2° 34.139'E) a été dicté par la présence et surtout l'abondance de l'aneth (Figure 4.4).

La commune d'Ahmar-El-Ain (36°28'41" N, 2°33'50 E), est située au Sud-Est de la wilaya de Tipaza, à 70 km au Sud-Ouest d'Alger et à environ 20 km au Sud-Est de Tipaza.

Le climat de cette région est de type méditerranéen subhumide, caractérisé par un hivers doux et humide et un été chaud et sec. Les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 600 mm concentrées sur une période pluvieuse d'octobre à février. La température moyenne annuelle est de 18 °C. Le sol est de type limoneux-argileux avec un pH de l'ordre de 7,5 [91].

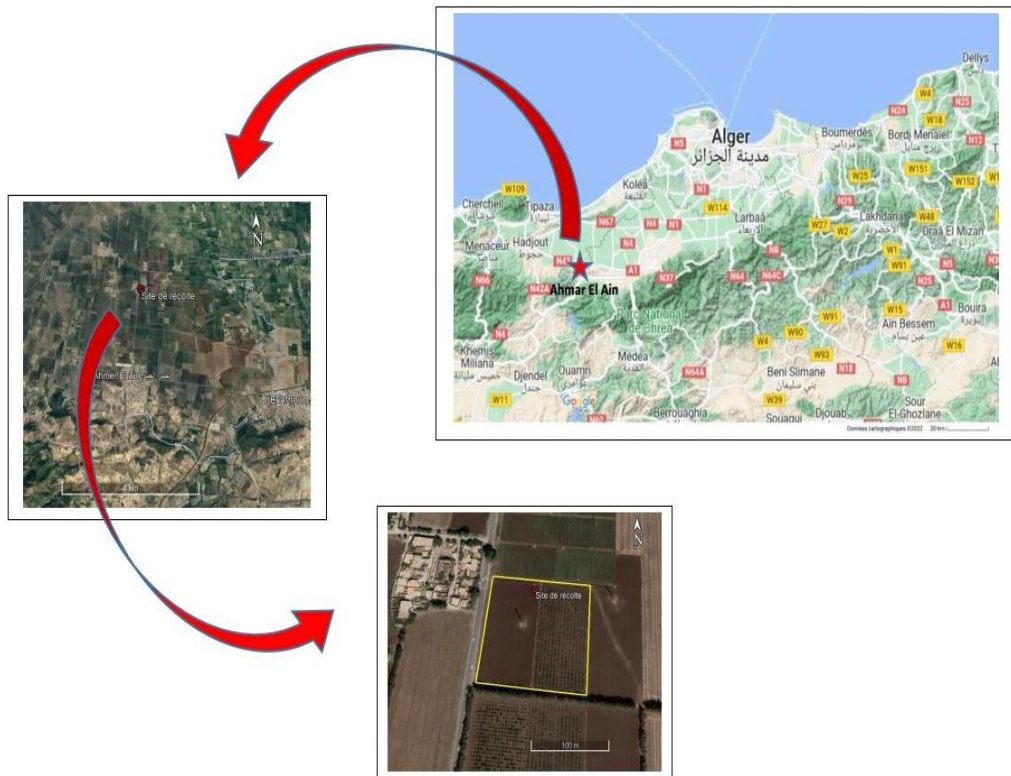


Figure 4.3 : Localisation du site de récolte



Figure 4.4: Site de récolte de l'aneth

IV.1.3. Récolte de la matière végétale

La récolte a été réalisée durant le mois de Mai 2022 lorsque la plante était en pleine floraison (Figure 4.5). Pour les besoins de l'expérimentation nous avons récolté quatre lots différents à savoir la plante entière, les feuilles, les fleurs et les tiges. Les différents lots ont été mis séparément dans des sacs en toile de jute pour bien les conserver contre la moisissure (Figure 4.5).



Figure 4.5 : Récolte et stockage de la plante

Nous avons récolté au total, 33 kg de la plante répartis sur les quatre lots (Tableau 4.3)

Tableau 4.3: Quantité (en Kg) de la plante récoltée selon les quatre lots

Lots	Plante entière	Tiges	Feuilles	Fleurs
Quantité (Kg)	13	10	5	5

IV.2. Méthodes

IV.2.1. Eléments étrangers

C'est un paramètre qui permet de statuer sur la pureté du matériel végétal à travers l'évaluation du taux d'éléments étrangers à la plante. A cet effet, pour rechercher les parties étrangères au matériel végétal étudié, une prise d'essai de 500g de ce matériel végétal est débarrassée de tous les éléments étrangers, ces derniers sont ensuite pesés pour en déterminer le pourcentage selon la formule suivante :

$$\% \text{ en éléments étrangers} = \frac{M_1}{M_0} \times 100$$

M_1 : masse des éléments étrangers, exprimée en g.

M_0 : masse de la prise d'essai au départ du matériel végétal.

(Pharmacopée Européenne 2020, 10^{ème} édition).

Notons que cette valeur ne doit pas dépassé les 2%

Pour éviter une contamination de notre matériel végétal lors du séchage, nous l'avons nettoyé avec soin pour enlever les insectes présents ainsi que toute autre partie morte de la plante qui risque de fausser ultérieurement les résultats (Figure 4.6).



Figure 4.6: Nettoyage des échantillons et élimination des éléments étrangers

IV.2.2. Séchage de la matière végétale

La technique de séchage des plantes consiste à extraire l'eau contenue dans la plante. Généralement, le séchage se fait par évaporation de l'eau de la plante dans l'air pour obtenir un produit stabilisé dans l'air et sans risque de dégradation.

La plante fraîchement récoltée est séchée à l'air libre au laboratoire à une température ambiante de 20 à 25 °C.

Un séchage réussi ne doit pas excéder 5 jours (de 1 à 2 jours pour des plantes coupées ou mondées, 3 à 5 jours pour des parties aériennes entières [92]).

Après nettoyage et élimination de tous les éléments indésirables, on étale la plante (feuilles, fleurs et tiges) dans des cartons ou sur des sacs et on les laisse sécher à l'air libre pendant quelque jours (Figure 4.7).



Figure 4.7 : Séchage de la plante

IV.2.3. Perte à la dessiccation

Il s'agit de la détermination de la quantité d'eau présente dans la matière végétale. L'objectif de ce test est de s'assurer d'avoir un taux d'humidité adéquat pour le bon séchage de la matière végétale et par conséquent avoir un bon rendement d'extraction.

Il est admis que le taux d'humidité tolérable ne doit pas dépasser les 10 à 12 % [92].

Pour la détermination du taux d'humidité du matériel végétal (Pharmacopée Européenne 2020) [93]. Une prise d'essai de 1 g (pesée avec précision) est séchée dans une étuve réglée à une température de 105° C jusqu'à masse constante (Figure 4.8). La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{(M_0 - M_1)}{M_0} \times 100$$

H(%) : Taux d'humidité.

M₀ : Prise d'essai de la plante avant le séchage, exprimée en g.

M₁ : Prise d'essai de la plante après le séchage, exprimée en g.



Figure 4.8: Pesée et séchage pour déterminer la perte à la dessiccation

IV.2.4. Screening Phytochimique

Le screening phytochimique est une technique colorimétrique pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans une drogue donnée.

Afin de caractériser les molécules bioactives contenues dans la partie aérienne de notre plante *Anethum graveolens*, On s'est basé sur les réactions colorimétriques et de précipitation. La mise en évidence de ces métabolites secondaires nous permet d'avoir une idée globale sur ces actions pharmacologiques.

Le screening est réalisé sur la poudre de la partie aérienne de l'Aneth (fleurs, feuilles, tige) ainsi que sur son infusé, en se référant aux protocoles et technique décrits par Bruneton et Harborne [94 ; 95].

Après le séchage des feuilles, fleurs et tiges, on les broie séparément dans un mixeur électronique jusqu'à obtention de poudres fines.

IV.2.4.1 Préparation de l'infusé

Pour l'obtention de l'infusé, on pèse 10 g de la poudre végétale (feuille, fleurs, tiges) qui sera mélangé à 100 ml d'eau bouillante. Ce mélange est laissé au repos pendant 30 min. L'infusé sera obtenu par filtration de ce mélange.

IV.2.4.2. Identification des anthocyanes

Pour l'identification des anthocyanes se fait selon les deux techniques suivantes :

On rajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 5 ml d'infusé. En présence d'Anthocyanes, la réaction donne une coloration rouge.

Lorsqu'on rajoute quelques gouttes d'ammoniaque (1/2) à 5 ml d'infusé. La réaction donne une coloration bleue en présence des Anthocyanes.

IV.2.4.3. Identification des leuco-anthocyanes

Pour l'identification des leuco-anthocyanes on met 2 g de poudre végétale dans 20 ml d'un mélange de propanol / Acide chlorhydrique (1/1), le tout est porté au bain marie bouillant pendant quelques minutes. Une coloration rouge se développe en présence des leuco-anthocyanes.

IV.2.4.4. Identification des tanins

Pour l'identification des tanins, on ajoute à 5ml de l'infusé, quelques gouttes d'une solution de chlorures ferrique à 5%. La réaction donne une coloration bleue noire en présence des tanins.

IV.2.4.5. Identification des tanins catéchétiques

On ajoute 7 ml de réactif de Stiasny à 15 ml de notre échantillon d'infusé. La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchétiques.

IV.2.4.6. Identification des tanins galliques

On prend 5 ml d'infusé auquel on rajoute 2 g d'acétate de sodium et quelques gouttes de chlorure ferrique à 5%. La réaction donne une coloration bleue foncé en présence des tanins galliques.

IV.2.4.7. Identification des quinones libres

Il s'agit de prendre 2 g de poudre végétale et de l'humecter par 2 ml d'acide chlorhydrique 1N, le tout sera mis en contact pendant 3 heures dans 20 ml de chloroforme. Après filtration, le filtrat est agité avec 5 ml d'ammoniaque (1/2). Ainsi, la formation d'une coloration rouge indique présence des quinones libres.

IV.2.4.8. Identification des quinones combinées

On additionne 2 g de poudre végétale à 5 ml d'Acide sulfurique 2 N, le tout est porté à reflux pendant 2 heures. La solution extractive est filtrée puis épuisée par 20 ml de chloroforme. Cette solution chloroformique est évaporée à sec puis épuisée par l'Ammoniaque (1/2). La réaction donne une coloration rouge en présence des quinones combinées.

IV.2.4.9. Identification des saponosides

On procède de trois façons à identifier les saponosides :

On Introduit dans une première fiole 5 ml d'acide chlorhydrique à 0,1 N, dans une deuxième fiole on introduit 5 ml d'hydroxyde de sodium à 0,1N, puis on rajoute dans chacune d'elles 2 à 3 gouttes d'infusé. La formation des mousses indique la présence des saponosides.

D'autre part, on prend 2 ml d'infusé auquel on rajoute quelques gouttes d'acétate de plomb. La formation d'un précipité blanc indique la présence des saponosides.

IV.2.4.10. Identification des alcaloïdes

Il s'agit de macérer 5 g de poudre végétale humectée avec l'Ammoniaque (1/2) pendant 24 heures dans 50 ml d'un mélange éther chloroforme (3/1). Le filtrat est épuisé par l'acide chlorhydrique 2 N. Des réactions de précipitations sont effectuées sur la solution chlorhydrique. En présence d'alcaloïdes, le réactif de Dragendroff donne un précipité rouge.

IV.2.4.11. Identification des coumarines

On fait bouillir à reflux 2 g de poudre dans 20 ml d'alcool éthylique pendant 15 min puis on filtre. On prend après 5 ml du filtrat auquel on rajoute quelques gouttes de la solution

Alcoolique de d'hydroxyde de potassium à 10% et quelques gouttes d'acide chlorhydrique à 10%. La formation d'un trouble indique la présence des coumarines.

IV.2.4.12. Identification des flavonoïdes

On ajoute à 5 ml d'infusé, 5 ml d'acide chlorhydrique, un copeau de magnésium et 1 ml d'alcool isoamylique. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

IV.2.4.13. Identification des glucosides

Quelques gouttes d'acide sulfurique sont ajoutées à 2 g de poudre végétale. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

IV.2.5. Extraction de l'huile essentielle

Il existe plusieurs procédés d'extraction de l'huile essentielle à partir de la matière végétale. Dans notre cas on va extraire l'HE de l'aneth à partir des tiges et de la plante entière à l'aide d'un extracteur pilote.

IV.2.5.1. Entraînement à la vapeur (Extracteur pilote)

L'extracteur pilote (Figure 4.9) permet l'obtention des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau . L'extracteur pilote sur lequel nous avons travaillé est composé de :

- Un alambic d'une capacité de 100 litres,
- Un condenseur,
- Un décanteur (essencier),
- Un tableau de commande pour le control et le réglage des paramètres opératoires [96].



Figure 4.9 : Extracteur pilote

IV.2.5.1.1. Protocol expérimental

On répartie 14 kg de *Anethum graveolens* fraîches dans de l'alambic ou le distillateur, supportée par une grille (Figure 4.10), l'extracteur est rempli d'eau jusqu'au niveau de la grille pour l'entraînement à la vapeur. L'équipement est mis sous tension en mettant la clé en position marche sur le tableau de commandes. La vapeur d'eau, venant de la chaudière pénètre dans le distillateur à travers une conduite placée au-dessous de la grille. La vapeur qui s'écoule vers le haut traverse le lit de la plate et entraîne avec elle l'huile essentielle. Le mélange des vapeurs d'eau et d'huile arrive dans le condenseur, où il est refroidi et condensé. Le distillat est recueilli dans l'essencier. L'huile essentielle est séparée de l'eau de ce distillat par décantation.

Le principe est le même pour l'extraction de l'huile essentielle des tiges d'Aneth.

IV.2.5.1.2. Le rendement de l'huile essentielle obtenue

$$R\% = \frac{MHE}{Mc \times (1-H)} \times 100$$

R% : rendement en huile essentielle

MHE : masse d'huile extraite (g)

Mc : masse de la charge (g)

H : humidité de la matière végétale.



Figure 4.10 : Extraction de l'huile essentielle d'aneth

IV.2.6.Extraction des polyphénols totaux

Pour réaliser les dosages des polyphénols pour les différentes parties (feuilles et fleurs) de notre matière végétale ; on prépare deux extraits méthanolique et éthanolique par **sonication**, Les protocoles sont présentés ci-dessous :

Principe de sonication

L'extraction par ultrasons est la technique privilégiée pour isoler les composés bioactifs des plantes. La sonication permet d'obtenir une extraction complète et donc des rendements d'extraction supérieurs dans un temps d'extraction très court. Étant une méthode d'extraction si efficace, l'extraction par ultrasons permet de gagner du temps et de l'argent, tout en produisant des extraits de haute qualité, qui sont utilisés pour les aliments, les compléments Et les produits pharmaceutiques.

L'extraction par ultrasons est réalisée lorsque des ondes ultrasonores de haute puissance et de basse fréquence sont couplées à une boue constituée de matière végétale dans un solvant.

IV.2.6.1.Extrait méthanolique par sonication

On ajoute 100 ml de méthanol à 10g de matériel végétal (poudre de feuilles ou fleurs), le tout est introduit dans un bain à ultrason et ce pendant une durée totale de 45 minutes (Figure 4.11). Le filtrat est ensuite concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris dans du méthanol.

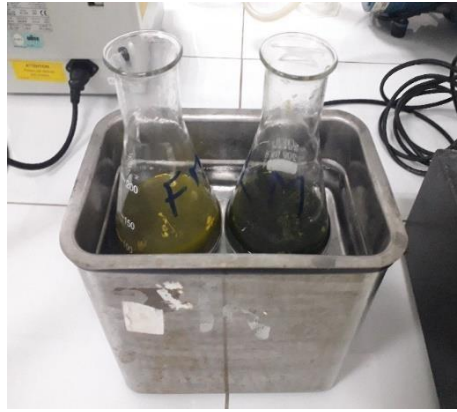


Figure 4.11 : Préparation de l'extrait méthanolique

IV.2.6.2. Extrait éthanolique par sonication

On prend 10g de matériel végétal (poudre des feuilles ou fleurs) auxquels nous ajoutons 100ml de l'éthanol. Le mélange est ensuite introduit dans un bain à ultrason pendant 45min (Figure 4.12). Le filtrat est ensuite concentré à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu sec est repris dans de l'éthanol.



Figure 4.12 : Préparation de l'extrait éthanolique

- **Le rendement d'extraction**

Le rendement de l'extraction est calculé en pourcentage du rapport de la masse d'extrait obtenu après extraction sur la masse totale de la plante utilisée dans l'extraction.

$$\% \text{ Rendement} = \frac{(M_1 - M_0)}{M_V \times (1 - H)} \times 100$$

M_1 : Masse du ballon après concentration sous évaporateur rotatif

M_0 : Masse du ballon vide

MT : masse de plante, après élimination du taux d'humidité

M_v = Masse de la plante fraîche

H : Taux d'humidité

IV.2.6.3. Dosage des polyphénols

IV.2.6.3.1. Principe

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par le réactif colorimétrique Folin-ciocalteu (FC) selon la méthode de Dewanto [97] cité par Chetoui [98]. L'ensemble des composés phénoliques est oxydé par le réactif de Folin-ciocalteu. Ce dernier, est de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxyde bleu de tungstène et de molybdène. La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques, et possède une absorbance maximale à environ 765 nm [99].

La réaction d'oxydation est accélérée en milieu alcalin (dans notre cas, par un ajout de carbonate de sodium) et pour réaliser les courbes de calibration, l'acide gallique est souvent pris comme référence [100].

IV.2.6.3.2. Protocole

Un volume de 0,2 ml d'extrait est ajouté à 0,5ml de réactif Folin-Ciocalteu à 10%. Après 5 minutes, 1,5ml de carbonate de sodium 7,5% sont ajoutés (Figure 4.13). Après agitation, l'ensemble est incubé à l'ombre pendant 30 minutes, puis la lecture est réalisée à 765nm par spectrophotomètre UV-Vis. Une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique comme standard afin de déterminer les concentrations en polyphénols [101].

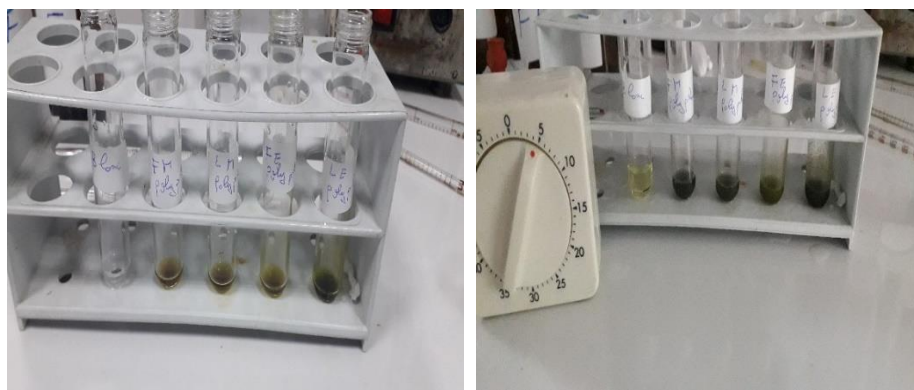


Figure 4.13 : Dosage des polyphénols totaux

IV.2.6.3.3. Expression des résultats

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire $y = a x + b$ réalisée par un standard étalon « acide gallique » à différentes concentrations (5-25 $\mu\text{g/ml}$) et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}$).

IV.2.7. Evaluation des activités biologique de l'*Anethum graveolens*

IV.2.7.1. Activité antioxydante par piégeage de radical

IV.2.7.1.1. Principe

Le test DPPH mesure l'activité antioxydante des composés capables de transférer des atomes d'hydrogène.

Le DPPH est un composé libre et stable avec une luminosité violette à 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome d'hydrogène entraîne la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine jaune (Figure 4.14). La couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [102].

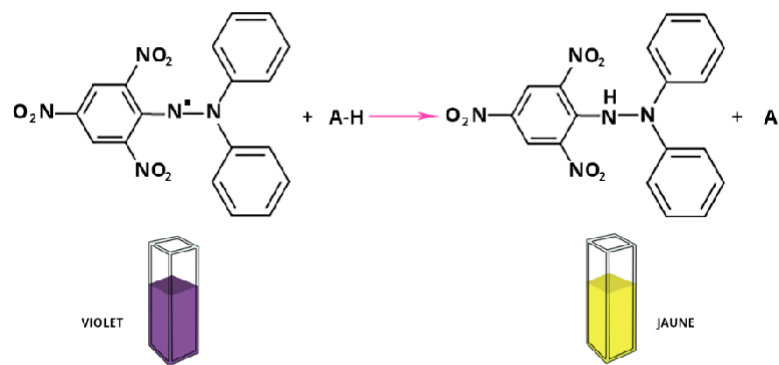


Figure 4.14: Réaction d'un antioxydant avec le DPPH [103]

IV.2.7.1.2. Protocole

Dans une fiole jaugé de 100 ml on fait dissoudre 4 mg de DPPH dans une petite quantité d'éthanol puis on complète le volume jusqu'à 100 ml.

On met le mélange obtenue en agitation pendant 3h à l'obscurité puis il est incubé à une température ambiante à l'abri de la lumière pendant 12 h. La méthode utilisée a été décrite par Molyneux [104].

Dans chaque tube à essai contenant 0,8 ml d'une solution éthanolique ou méthanolique de l'extrait à tester (FE, FM, LE, LM) à différentes concentrations (10, 1, 0.1, 0.01, 0.001 mg/mL), un volume de 3,2 ml de la solution de DPPH a été rajouté. L'acide ascorbique, utilisé comme antioxydant de référence a également été testé aux mêmes concentrations que les échantillons testés. La lecture de l'absorbance se fait au bout de 30 minutes d'incubation à l'obscurité au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant l'éthanol comme blanc. Trois mesures de l'absorbance ont été effectuées pour chaque concentration testée (n=3). Le pourcentage d'inhibition (PI) des radicaux libres DPPH a été calculé selon la formule :

$$PI (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$$

A0: absorbance du blanc

A1: absorbance de l'échantillon

La concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres (CI50) a été déterminée en utilisant le logiciel Statgraphics Plus 5.0 [90].

La valeur IC50 a été déterminée pour chaque extrait, elle est définie comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur). Ou encore, c'est la concentration de l'échantillon exigé pour donner une diminution de 50% de l'absorbance de la solution contrôle constituée de méthanol et DPPH. Les valeurs EC50 moyennes ont été calculées par les régressions linéaires des trois essais séparés où l'abscisse est représentée par la concentration des composés testés et l'ordonnée par l'activité antioxydante en pourcentage [90].

IV.2.7. Evaluation de l'activité anti inflammatoire

IV.2.7.1. Principe

Le principe de cette étude consiste à injecter sous l'aponévrose plantaire de la patte gauche de la souris de la carragénine pour provoquer une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti inflammatoire. Cette étude permet la comparaison de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti inflammatoire à tester (l'extrait de la plante à 10%) et du produit de référence correspondant (Indométacine à 10mg/Kg) (Levy, 1969).

L'évaluation de l'activité anti inflammatoire de l'extrait aqueux (infusé) des parties aériennes de *Anethum graveolens* (feuilles, fleurs, tiges) a été réalisée selon la méthode de Colot M 1972 [105].

IV.2.7.2. Protocole expérimental (Colot M. 1972)

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait aqueux sur l'œdème de pattes postérieures après injection de la carragénine à 0,1% sous l'aponévrose plantaire chez les souris selon le test de (Levy, 1969). Nous avons utilisé, des souris Albinos males, dont le poids varie entre 20 et 30g, obtenus de l'animalerie du CRD SAIDAL.

Les souris ont été réparties en 5 lots, chacun contient 5 souris

- Un lot témoin
- Un lot de référence
- Un lot essai infusé des fleurs d'*anethum graveolens* (AF)
- Un lot essai infusé des feuilles d'*anethum graveolens* (AL)
- Un lot essai infusé des tiges d'*anethum graveolens* (AT)

Première étape : Au temps T0

Les souris ont été mises à jeun pendant 16 heures, ensuite nous avons administré par voie Intra-gastrique (gavage) pour les cinq lots les suspensions suivantes :

- **Lot témoin** : chaque souris reçoit 0,5ml de l'eau physiologique.
- **Lot de référence** : chaque souris reçoit 0,5ml de diclofenac à 10mg/Kg

- **Lot essai infusé des fleurs d'*anethum graveolens* (AF)** : chaque souris reçoit 0,5ml de l'extrait aqueux des fleurs à 10%
- **Lot essai infusé des feuilles d'*anethum graveolens* (AL)** : chaque souris reçoit 0,5ml de l'extrait des feuilles à 10%
- **Lot essai infusé des tiges d'*anethum graveolens* (AT)**: chaque souris reçoit 0,5ml de l'extrait des tiges à 10%

Deuxième étape : temps T0 + 30min

Les cinq souris de chaque lot ont reçu 0,025ml de la carragénine (pour provoquer une réaction inflammatoire) sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.

Troisième étape : temps T0 + 4H

Les animaux sont sacrifiées par rupture de la nuque, puis les pattes postérieures sont coupées à hauteur de l'articulation et pesées sur une balance analytique.

IV.2.7.2. Expression des résultats

Selon Colot (1972) :

- Les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et de la patte droite pour chaque lot sont calculées.
- Le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyenne des poids de la patte gauche} - \text{moyenne des poids de la patte droite}}{\text{Moyenne des poids de la patte droite}} \times 100$$

- Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

- Le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par l'extrait de la plante par rapport à l'indométacine est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème de référence}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

IV.2.8. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits et de l'huile essentielle de *l'anethum graveolens*, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose appelés aromatoigrammes. Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques «Pharmacopée Européenne 2020, 10^{ème} édition », le mode opératoire quant à lui, a été approuvé par la directrice du laboratoire de microbiologie du CRD-SAIDAL. La méthode de diffusion sur milieu gélosé a été utilisée par plusieurs chercheurs [106 ; 107].

IV.2.8.1. Principe

La méthode des aromatoigrammes consiste à déposer un disque stérile d'antibiotique en cellulose imprégné d'une quantité bien définie de l'extrait à tester, à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec le micro-organisme testé. Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre (en mm) de la zone claire autour du disque, appelée : zone d'inhibition (Figure 4.15).

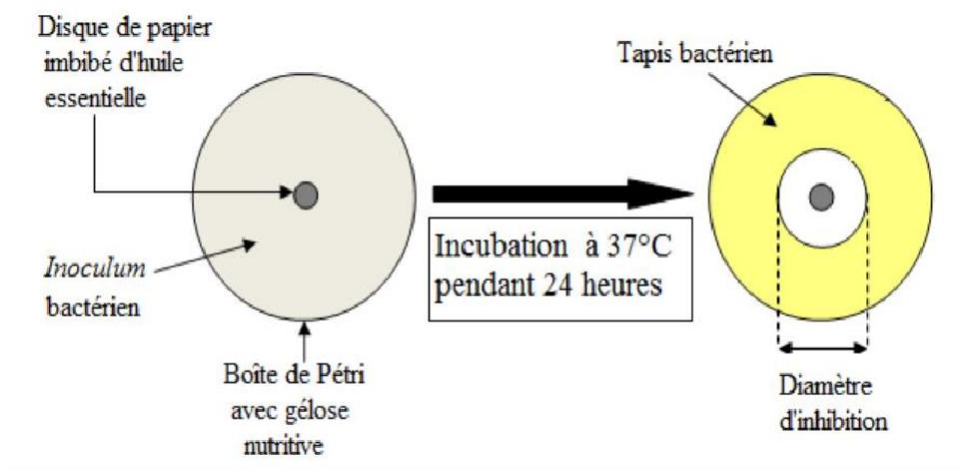


Figure 4.15 : Principe de la méthode de diffusion par disque.

IV.2.8.2. Micro-organismes testés

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits étudiés, nous avons testé ces

dernières sur 5 micro-organismes (4 bactéries pathogènes et 1 levure), qui sont tous de souches pures et issues de la collection du **CRD-SAIDAL**. Le tableau (4.5) fournit les principales infections causées par ces micro-organismes.

Tableau 4.5 : Liste et caractéristiques des souches microbiennes testées

Nom de la souche	N° ATCC	Gram	Famille	Principales infections causées
<i>Staphylococcus aureus</i>	6538	+	<i>Micrococcaceae</i>	- Gastro-entérites ; - Infections urinaires ; - L'ostéomyélite et l'arthrite
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	-	<i>Pseudomonadaceae</i>	- Crampes abdominales; - Troubles digestifs.
<i>Escherichia coli</i>	4157	-	<i>Enterobacteriaceae</i>	- Diarrhées dysentériques. - Gastro-entérites.
<i>Bacillus subtilis</i>	9372	+	<i>Bacillaceae</i>	-Gastro-entérites.
<i>Candida albicans</i>	24433	/	<i>Saccharomycetaceae</i>	- Lésions cutanées ; - Infections œsophagiennes ; - Infections génitales.

IV.2.8.3. Protocole expérimental

- **Préparation de la première couche de milieu**

On fait fondre les milieux Mueller-Hinton et Sabouraud dans un bain marie à 95°C, après on verse aseptiquement une première couche des deux milieux dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 15 ml par boîte, on laisse refroidir et solidifier sur paillasse.

- **Préparation de L'inoculum**

A partir d'une culture jeune de 18h pour les bactéries et de 48h pour les levures, on réalise des suspensions troubles en prélevant 3 à 4 colonies bien isolées et identiques, qu'on dépose dans 5 ml d'eau physiologique stérile puis on agite au vortex. On réalise une première

lecture de la concentration de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre en estimant la transmittance qui doit être comprise entre 22% et 32% pour les bactéries et entre 2% et 3% pour les levures et cela à une longueur d'onde de 620 nm. Les valeurs comprises dans les intervalles cités ci-dessus correspondent à une concentration optimale de 10^7 - 10^8 UFC/ml. Si une des valeurs trouvée à la première lecture n'est pas comprise dans l'intervalle, on ajuste soit en ajoutant de l'eau physiologique (à 9% de NaCl) si elle est inférieure à la valeur minimale ou en ajoutant des colonies si elle est supérieure à la valeur maximale. A chaque fois une nouvelle lecture de transmittance est réalisée jusqu'à l'ajustement de la suspension aux valeurs désirées. L'inoculum doit être utilisé dans les 15mn suivant sa préparation.

- **Préparation de la deuxième couche du milieu**

On fait fondre les deux milieux MH et SAB, on les laisse refroidir jusqu'à une température de 45°C et on transvase 50 ml de chaque milieu dans des flacons stériles. On ensemence les milieux avec 200 µl de chaque suspension et on agite manuellement ; puis on dépose rapidement 4 à 5 ml de chaque milieu ensemencé sur la surface de la première couche (couche support) de gélose solidifiée. On étale immédiatement la couche en faisant pivoter la boîte sur elle-même pour avoir une surface uniforme et on laisse solidifier sur la paillasse.

- **Dépôt des disques**

À l'aide d'une micropipette, et en utilisant des cônes stériles, on prélève 20 à 30 µl de l'extrait à tester, puis on dépose chaque quantité prélevée sur le disque posé préalablement à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose ensemencée, on laisse diffuser pendant 30 mn et enfin, incubé à 37°C pendant 24h pour les bactéries et 25°C pendant 48h pour les levures.

- **Lecture des résultats**

- Zones claires autour du disque : présence d'une activité inhibitrice des extraits.
- Absence de zones claires autour du disque : pas d'effet inhibiteur des extraits.

Chapitre V : Résultats et interprétations

Notre expérimentation réalisée au niveau des laboratoires du centre de recherche et de développement (CRD) du groupe SAIDAL (Gue de Constantine), a comme objectif principale, la valorisation des métabolites secondaires de l'aneth (*Anethum graveolens*) et ses activités biologique.

A partir de la matière végétale récoltée, nous avons obtenus différents produits qui ont servis pour les différentes analyses. Il s'agit de l'infusé, des extraits méthanoliques et éthanoliques et de l'huile essentielle de l'aneth.

Avec les extraits obtenus (méthanoliques et éthanoliques) nous avons effectué différents analyses qui sont les activités antimicrobiennes et antioxydantes ainsi que le dosage des polyphénols totaux, le screening phytochimique et l'étude de son effet anti-inflammatoire (pour l'infusé) et l'étude de l'activité antimicrobienne (pour l'huile essentielle de l'aneth) (**Annexes 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9**).

V.1. Eléments étrangers à la matière végétale

Les herbes contiennent inévitablement des éléments étrangers. Ceux-ci peuvent être des plantes différentes, des falsifications volontaires ou involontaires du producteur, des matières minérales comme des galets ou du sable, des insectes, etc. La teneur en éléments étrangers autorisée par la Pharmacopée Européenne est d'environ 2% [108].

La pureté des différentes parties de *l'Anethum graveolens* (feuilles ; fleures, tiges) et celle de la plante entière est calculée selon la relation cité précédemment (chapitre matériel et méthode) :

Tableau 5.1 : Teneurs en éléments étrangers à *l'Anethum graveolens*

Partie	Plante entière	feuilles	Fleure	tiges
% Des éléments étrangers	1.9	1.8	1	0.8

Nous remarquons que le matériel végétal utilisé soit les différentes parties de la plante présentent des teneurs en éléments étrangers très faibles. Ceci répond parfaitement aux normes de la Pharmacopée Européenne (% Des éléments étrangers < 2).

V.2. Perte à la dessiccation

Le calcul de ce paramètre permet d'obtenir un taux d'humidité convenable pour le bon séchage de la matière végétale et de ce fait, avoir un bon rendement d'extraction. Les normes pour ce paramètre sont de l'ordre de 10 à 12 % selon la Pharmacopée Européenne.

Le résultat obtenu pour notre matériel végétal est H% = 3,8%

V.3. Screening chimique

Les résultats du screening chimique des différentes parties aériennes de l'aneth sont présentés dans le tableau (5.2).

Tableau 5.2 : Screening chimique des parties aériennes de l'aneth

	<i>Anethum graveolens</i>		
	Feuilles	Fleurs	Tiges
Anthocyanes	++	+	+
Leuco-anthocyanes	-	+	-
Tanins	+++	+++	+++
T. Catéchétique	+	+	-
T. Galliques	+++	+++	+++
Quinones libres	+++	-	-
Quinones combinées	++	++	-
Saponosides	+	+	-
Alcaloïdes	++	+	+++
Coumarines	+++	+++	-
Flavonoïdes	+++	+++	+
Glucosides	-	-	-

Forte présence (+++); Présence Moyenne (++) ; Faible présence (+) ; absence (-).

Les tanins et Tanins galliques sont fortement présents dans les trois parties aériennes étudiées. Les tanins catéchétiques sont faiblement présents dans les feuilles et les fleurs et totalement absent dans les tiges. Les anthocyanes sont aussi présents dans les trois parties mais avec des teneurs moyennes (feuilles) à faibles (fleurs et tiges), alors que les glucosides sont totalement absents.

Deux métabolites sont fortement présents dans les feuilles et les fleurs, il s'agit des coumarines et des flavonoïdes, ces deux composantes sont faiblement présentes (flavonoïdes) voire absentes (coumarines) dans les tiges.

Quoique retrouvés dans les trois parties, les alcaloïdes sont abondants dans les tiges. Les feuilles se distinguent par la présence des Quinones libres. Les leuco-anthocyanes n'ont été trouvé que dans les fleurs.

V.4. Rendement d'extraction

Les rendements d'extractions méthanoliques et éthanologiques des feuilles et des fleurs sont données dans le tableau (5.3)

Tableau 5.3 : Rendements d'extractions par sonication

	Feuilles (%)	Coloration	Fleurs (%)	Coloration
Extrait méthanolique par sonication	29	Jaunâtre	30,28	Vert
Extrait éthanologique par sonication	20,74	Vert	24,62	Vert foncé

D'après le tableau (5.3), nous remarquons que les rendements des extraits méthanoliques sont plus importants que ceux des extraits éthanologiques. Ils sont presque similaires entre feuilles et fleurs pour les premiers alors que le rendement est plus important chez les fleurs que les feuilles dans le cas des extraits éthanologiques.

V.5. Rendement d'extraction de l'huile essentielle

Les rendements de l'huile essentielle de la plante entière et des tiges de l'*Anethum graveolens* sont présentés dans le tableau (5.4).

Tableau 5.4 : Rendement de l'huile essentielle

	Plante entière	Tiges
Rendement (%)	0.05	0
Couleur	Jaune nacré	/

Comme nous le constatons dans le tableau 5.4, le rendement de l'huile est nul pour les tiges alors qu'il est de 0,05% pour la plante entière.

V.6. Dosage des polyphénols

Rappelons que dans la présente étude le dosage des polyphénols totaux, était évalué par la méthode de Dewanto et al. (2002) [97] basée sur la réaction colorimétrique par le Folin-ciocalteu (FC).

Les résultats de dosage des polyphénols dans les extraits méthanoliques des fleurs (FM) et des feuilles (LM) et les extraits éthanoliques des fleurs (FE) et des feuilles (LE), sont présentés dans la figure (5.1) et le tableau (5.5).

Les résultats obtenus sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme de la matière végétale (mg EqAG/g de la matière végétale) en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

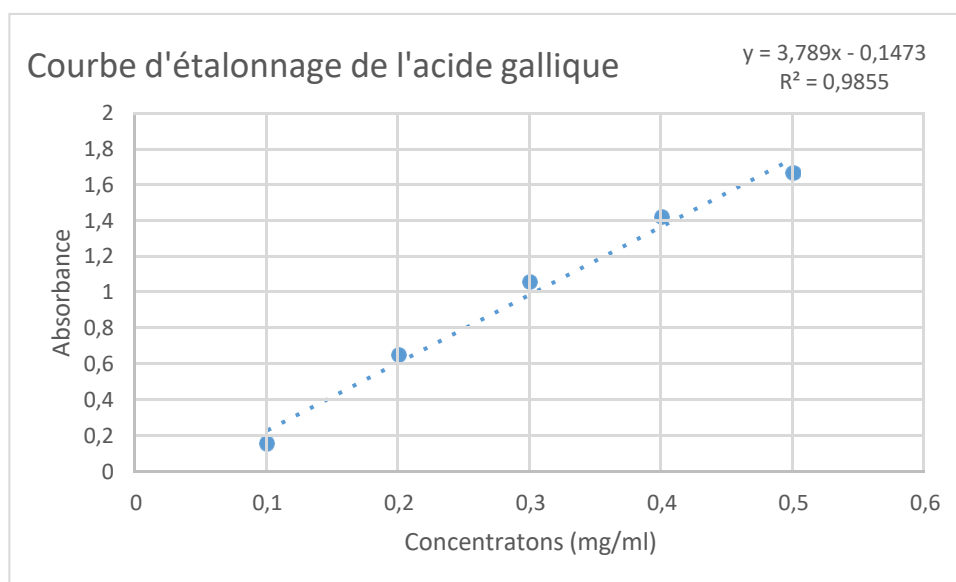


Figure 5.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour doser les polyphénols de l'aneth

Tableau 5.5 : Teneurs des polyphénols dans les différents extraits

Extraits	T (mg EqAG/g de la matière)
LM	41,10
LE	43,5
FM	27,5
FE	20,2

D'après les résultats présentés dans le tableau (5.5) et la figure (5.1), nous constatons que la teneur des polyphénols est plus importante dans l'extrait éthanolique des feuilles d'aneth (43,5 mg EqAG/g de la matière) que celle dans l'extrait éthanolique des fleurs de la même plante.

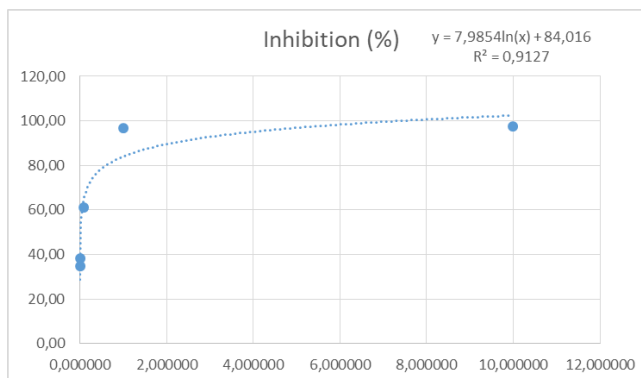
Pour les extraits méthanoliques, la quantité des polyphénols présents dans l'extrait des feuilles (LM =41,10 mg EqAG/g de la matière) est supérieure à celle de l'extrait méthanolique des fleurs (FM= 27,5 mg EqAG/g de la matière).

Si on compare les résultats de dosage des polyphénols entre les fleurs et les feuilles, nous remarquons que les deux extraits méthanolique et éthanolique des feuilles présentent de plus fort taux de polyphénols que chez les fleurs.

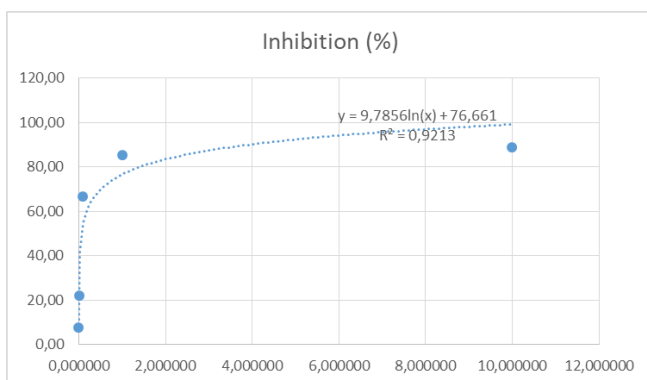
V.7. Activité antioxydante

Considéré comme un très bon antioxydant de synthèse, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard pour notre étude. Les résultats des quatre extraits (FE, FM, LE, LM) ainsi

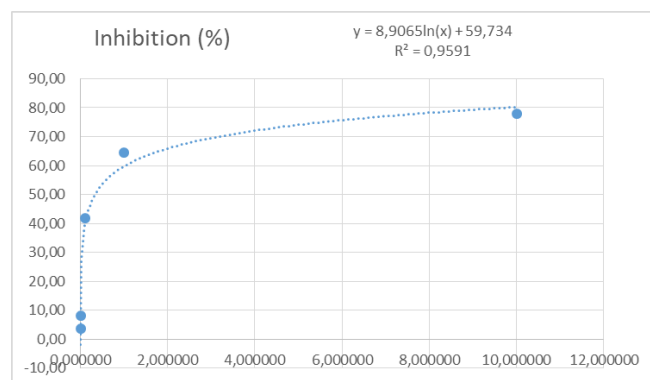
que ceux de l'acide ascorbique sont présentés dans les figures (5.2), (5.3) et les tableaux (5.6), (5.7)



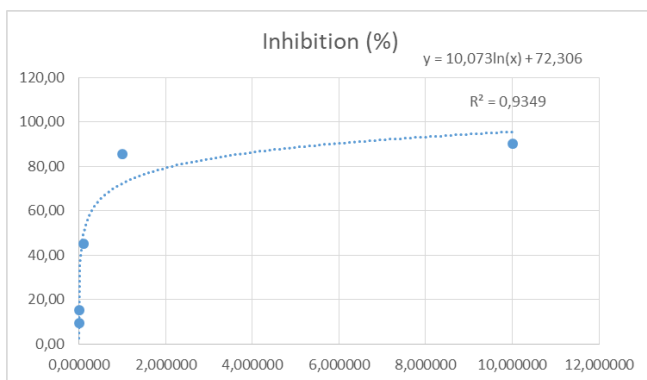
l'acide ascorbique



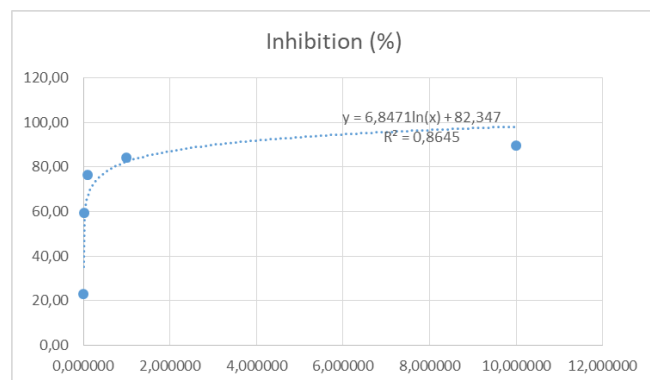
Extrait méthanolique des feuilles



Extrait éthanolique des feuilles



Extrait méthanolique des fleurs



Extrait éthanolique fleurs

Figure 5.2 : Activité antioxydante des extraits étudiés

Tableau 5.6 : Pourcentage d'inhibition des extraits et de l'AA selon différentes concentrations

	C1	C2	C3	C4	C5
Concentration (mg/ml)	10	1	0.1	0.01	0.001
% d'inhibition d'acide ascorbique (AA)	97,42	96,69	61,13	38,15	34,76
% d'inhibition d'FE	89,60	84,27	76,37	59,52	23,15
% d'inhibition d'LE	77,90	64,60	41,94	8,06	3,63
% d'inhibition d'FM	90,32	85,48	45,00	15,32	9,44
% d'inhibition d'LM	88,79	85,40	66,61	22,02	7,82

AA : acide ascorbique

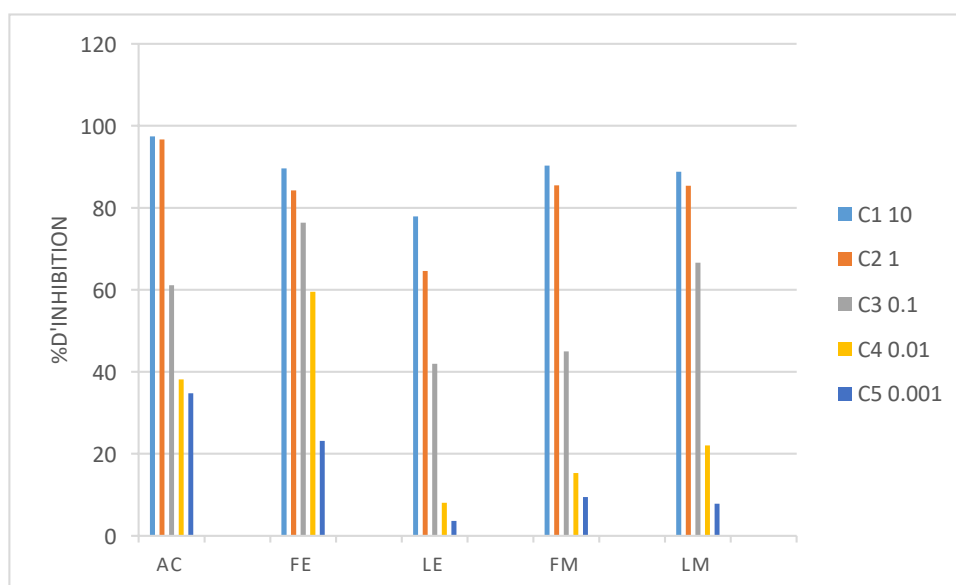


Figure 5.3 : Variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration des extraits des parties aériennes de l'aneth.

Concernant le pourcentage d'inhibition des extraits de *Anethum graveolens* contre le DPPH, nous notons qu'à une concentration de 10 mg/ml (à la saturation) de DPPH les quatre extraits ont montré une forte inhibition avec des valeurs de LM=88.79% ; FM=90.32% ;

LE=77,90% ; FE=89,60%. Ces valeurs sont légèrement inférieures à la valeur de l'acide ascorbique qui est de 97,42%.

Pour une concentration de 1mg/ml de solution de DPPH, on remarque une diminution du pourcentage de l'inhibition des quatre extraits par rapport à la première valeur de 10 mg/ml.

Concernant la concentration de 0.1mg/ml de DPPH, nous avons enregistré des valeurs de FE=76,37% et LM=66,61%, valeurs supérieures à celle de l'inhibition de l'acide ascorbique.

Les extraits méthanoliques des fleurs et éthanoliques des feuilles ont montré des valeurs inférieures à celle de l'acide ascorbique (LE=41,94% FM=45,00% < AA=61,13%).

Pour la concentration 0.01 mg/ml on note une réduction remarquable des valeurs de l'inhibition pour l'extrait éthanolique des feuilles (LE) et les extraits méthanoliques des fleurs (FM) et des feuilles (LM) par rapport à l'acide ascorbique.

Pour l'extrait éthanolique des fleurs le pourcentage de l'inhibition est supérieur à celui de l'acide ascorbique.

La concentration efficace (IC 50) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre à 50 %. Ainsi plus la valeur d'IC 50 est basse plus l'activité antioxydante du composé est grande.

En effet, nous constatons selon nos résultats (Tableau 5.7) que l'extrait méthanolique des feuilles est le plus efficace avec une IC50 de 0,009 mg/ml suivi par l'acide ascorbique (IC 50=0,014 mg/ml).

Tableau 5.7 : la concentration (IC 50) pour les différents extraits et l'acide ascorbique

	acide ascorbique	FE	LE	FM	LM
IC 50 (mg/ml)	0.014	0.066	0.33	0.11	0.009

V.8. Activité anti-inflammatoire

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de *Anethum graveolens* est faite par induction d'une inflammation aiguë sur les pattes des souris en utilisant la carragénine. L'inflammation est mesurée ensuite par la variation des poids des pattes (gauche et droite) suite à l'induction ou l'inhibition de la formation de l'œdème.

Les résultats des moyennes du poids des pattes et le pourcentage de l'œdème formé ainsi que la réduction de l'œdème sont présentés dans le tableau (5.8).

Tableau 5.8 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire

	Moyenne du poids des pattes (g)		% d'œdème	% de réduction de l'œdème
	Gauche	Droite		
Témoin « Eau physiologique »	0,109	0,076	43,42	0
Référence « Diclofenac sodique »	0,169	0,139	21,58	50,30
Extrait aqueux des fleurs 10%	0.173	0.135	28.17	35.12
Extrait aqueux des feuilles 10%	0.168	0.131	28.24	34.96
Extrait aqueux des tiges 10%	0.179	0.130	37.69	13.20

L'activité anti-inflammatoire des extraits étudiés est comparée à l'activité du Diclofenac sodique considéré parmi les anti-inflammatoires les plus efficaces.

Concernant le pourcentage d'œdème, nous avons enregistré le plus fort taux de réduction chez les extraits aqueux des tiges (37.69 %) alors que la valeur la plus faible est celle du

Diclofenac sodique (21,58%). Les extraits de feuilles et de fleurs ont enregistré des valeurs faibles proches de celle du Diclofenac sodique, elles sont respectivement de 28.24 % et 28.17%.

Par ailleurs, pour ce qui est du taux de réduction de l'œdème, on note la plus grande valeur pour le Diclofenac sodique (50,30%). Néanmoins, les extraits des fleurs et des feuilles montrent des valeurs satisfaisantes de l'ordre de 35.12 % et 34.96 %.

V.9. Activité antimicrobienne

Les résultats de l'activité des différents extraits et de l'huile essentielle de l'Aneth sur différentes souches microbiennes (bactéries et un champignon) sont présentés dans le tableau (5.9)

Tableau 5.9 : Effet de l'huile essentielle et des extraits de feuilles et de fleurs de l'aneth sur les souches microbiennes.

	Souches	Diamètre d'inhibition (mm)				
		LM	FM	LE	FE	HE
à Bactérie Gram ⁺	<i>Staphylococcus aureus</i>	11	12.33	10.33	12.66	9
	<i>Bacillus subtilis</i>	12	12.66	10.66	9	11,16
à Bactérie Gram ⁻	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	10,33	10,6	10	9
	<i>Escherichia coli</i>	10	10	10.33	10.66	13,83
Levure	<i>Candida albicans</i>	9	9	9	9	9

La première lecture du tableau fait ressortir une activité antimicrobienne assez bonne des extraits et de l'huile essentielle de l'aneth. L'effet de cette activité qui se mesure par le diamètre d'inhibition (en mm) des souches, montre que l'huile essentielle de l'aneth est la plus performante sur *Escherichia coli*. Son effet est aussi intéressant sur *Bacillus subtilis*.

L'ensemble des extraits méthanoliques et éthanolique ont montré des activités efficaces contre les bactéries gram+. L'extrait méthanolique des fleurs présente l'effet le plus important contre *Bacillus subtilis*. Cette dernière souche s'est montrée aussi sensible à l'extrait éthanolique des fleurs.

Candida albicans a réagi d'une manière similaire aussi bien à l'huile essentielle qu'aux différents extraits de l'aneth.

Discussion générale

Le présent travail s'inscrit dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles notamment les plantes aromatiques et condimentaires. On s'est intéressé à la valorisation de l'*Anethum graveolens*. Pour ce faire l'expérimentation a été réalisée dans les laboratoires du centre de recherche et de développement (CRD) du groupe SAIDAL (Gue de Constantine).

Différentes méthodes d'extractions (sonication et entrainement à la vapeur) ont permis d'obtenir un infusé, des extraits méthanoliques et éthanoliques ainsi que l'huile essentielle à partir de la plante entière et des différentes parties aériennes à savoir les feuilles, les fleurs et les tiges.

Une fois les métabolites secondaires identifiés par screening et après avoir réalisé les dosages des polyphénols, nous avons testé les activités biologiques des différents produits (extraits et huile essentielle). Il s'agit des activités antimicrobiennes, antioxydants et anti-inflammatoires.

Dans toute expérimentation concernant les analyses phytochimique de toute drogue, la teneur en éléments étrangers est un paramètre primordial. En effet, selon la Pharmacopée Européenne cette teneur ne doit pas dépasser 2%. Nos échantillons ont présenté des valeurs inférieures à cette norme. Ceci met en évidence le bon déroulement de notre récolte. En effet, nous avons procédé avec soin pour ne pas récolter des parties ou débris d'autres plantes.

D'autre part, il est à signaler que la perte à la dessiccation du matériel végétal est aussi importante pour un bon séchage ce qui permet d'améliorer le rendement. Les résultats obtenus ont montré une valeur avoisinant les 3,8 %, cette dernière, est nettement inférieure à la norme tolérée par la pharmacopée européenne qui est de l'ordre de 10 à 12%.

Le screening chimique permet de détecter les différentes familles de composés existant dans la plante. Le recours à ce procédé a révélé la composition en métabolites de notre plante avec toutefois, une variabilité entre les différents organes étudiés.

Les feuilles renferment de forts taux (+++) de tanins, de tanins galliques, de coumarines et des flavonoïdes, alors que les tanins catéchétiques et les saponosides sont faiblement présents (+). Les anthocyanes, les quinones combinées et les alcaloïdes sont moyennement présents (++) . Les glucosides sont totalement absents (-). Les feuilles se distinguent par la présence des quinones libres (+++).

Les fleurs présentent la même composition que les feuilles pour ce qui est des tanins, des tanins galliques, des coumarines, des flavonoïdes, des tanins catéchétiques, des alcaloïdes et des glucosides. Alors que les anthocyanes sont faiblement présents (+). Nous signalons que les leuco-anthocyanes n'ont été trouvés que dans les fleurs.

Pour ce qui est des tiges, elles ont montré une forte présence de tanins, tanins galliques et d'alcaloïdes (+++). Les anthocyanes et les flavonoïdes sont faiblement présents (+) alors que les autres métabolites sont totalement absents.

Tifouri Benzina (2021) [28] dans son étude sur l'aneth cultivée à l'Ouest algérien a trouvé une composition presque similaire à la nôtre concernant la plante entière.

Toutefois, les quantités de certains métabolites semblent différentes ; les tanins et les flavonoïdes sont faiblement présents par rapport à nos résultats, alors que les saponosides sont presque similaires.

Notons aussi, que chez la plante entière et les semences, cet auteur a trouvé une forte présence de terpénoïdes avec des fortes doses.

D'autres travaux ont dressé la composition phytochimique de l'aneth et ont révélé la présence d'alcaloïdes, de glucides, de résine, de terpénoïdes, de flavonosides, de saponine,

de stéroïde, de tanin, de flavonoïde et l'absence de sucre réducteur, de glycosides, d'anthraquinone, de phlobatanines (Shyu et *al.*, 2009, Dahiya et Purkayastha 2012 ; Pathak et al. 2014, Chahal et al 2017, Kollab et Alamen 2018). **[109 ; 110 ; 111 ; 112 ; 113]**.

Les fruits d'*A. graveolens* sont aussi une riche source de différents groupes de métabolites tels que les coumarines, flavonoïdes, acides phénoliques, huile grasse et minéraux (Szopa et Ekiert 2016) **[114]**.

La différence de composition en métabolites entre feuilles et fleurs concorde avec les travaux de Radlescu et al. (2010) [24] et Hussein et al. (2015) **[30]** qui ont souligné une nette différence de composition entre les fleurs, les feuilles et même les graines.

Les extraits méthanoliques et éthanoliques des feuilles et des fleurs obtenus par **ultrason**, ont montré des rendements plus importants pour les premiers (FM = 30,28 %, LM= 29 %) par rapport à ceux des extraits éthanoliques (FE = 24,62 %, LE= 20 ,74 %).

Pour la région de sidi bel Abbes, les rendements de la plante étaient de l'ordre de 8,18% pour l'extrait méthanolique, et 13,97% pour l'extrait aqueux ; pour les rendements au niveau de la semence, les valeurs enregistrées étaient de 8,16% (extrait éthanolique) et 5,03% (extrait méthanolique) **[28]**.

Les colorations sont différentes entre les extraits méthanoliques (LM= vert ; FM= Jaunâtre) et éthanoliques (LE=Vert foncé ; FE=Vert), ceci est probablement dû à l'affinité de certaines substances avec les différents solvants et la capacité de récupération de ces derniers.

Le rendement en huile essentielle est de 0,05 % pour la plante entière. Néanmoins, nous n'avons pas obtenu d'huile à partir des tiges. L'huile essentielle obtenue avait une couleur jaune nacré similaire à celle notée par Tifouri Benzina (2021) **[28]**.

Nos résultats paraissent légèrement meilleurs que ceux obtenus par Tifouri Benzina (2021) [28] à l'Ouest du pays qui a enregistré un rendement de 0,02%. Néanmoins, cet auteur a obtenu un rendement très important (0,6%) De l'huile essentielle issue de la graine.

L'huile essentielle peut être extraite de diverses parties de plantes, y compris les feuilles, les fleurs et les graines ; son rendement varie donc entre les différentes parties de la même plante [115]. Santos et al., (2002) [116] dans leur étude sur l'aneth cultivée ont enregistré que le rendement en huile essentielle des fruits, des parties aériennes et des racines de la plante d'aneth était respectivement de 2,0, 0,3 et 0,06 %. Alors que Radlescu et al. (2010) [24] ont donné des valeurs plus importantes et ont noté que l'huile essentielle obtenue à partir de graines d'aneth avait une teneur différente (3,4 %) de l'huile essentielle de fleur d'aneth (3,2 %) ainsi que des fruits (1,2 %).

Certaines variations observées dans les quantités relatives des principaux composants des huiles essentielles de différentes parties de l'aneth, peuvent être attribuées aux différentes origines géographiques, à la variabilité génétique, aux conditions de croissance, au développement des organes ainsi qu'aux variations saisonnières (Chahal et al 2017) [112].

Notons aussi que le rendement varie également selon la méthode d'extraction. Le rendement en huile essentielle extraite des fruits de l'aneth par hydrodistillation (2,01 %) était supérieur à celui de l'huile distillée à la vapeur (1,02 %) (Ruagamart et al.2015) [117].

Par ailleurs, l'absence d'huile essentielle au niveau de la tige ne concorde pas avec les résultats de Dahdouh et Boudiaf (2018) [36] qui ont trouvé un rendement de 0.04% pour l'huile essentielle des tiges d'*anethum graveolens* récoltée dans la wilaya de Mila (Algérie) et obtenus par hydro distillation.

Nous tenons à signaler que nous n'avons pas pu identifier les composés chimiques de l'huile essentielle de notre plante par GC/MS. Les laboratoires de SAIDAL ne disposent pas de ce

type de matériel et nous n'avons pas pu avoir accès à ce type d'analyse dans d'autres laboratoires du pays.

Toutefois, nous citons à titre d'information, les résultats de Khaldi et al. (2015) [118] qui ont travaillé sur l'*A. graveolens* spontané dans la région de Bechar et qui ont identifié 15 composés représentant 98,93% de la teneur totale en huile essentielle de l'aneth. Les composants les plus importants sont l'apiol (32,78%), la carvone (31,04%), le limonène (31,04%), la pipéritone (6,11 %) et α -phellandrène (3,28 %).

Les teneurs des polyphénols totaux dans les différents extraits (feuilles et fleurs) ont été identifiées à partir de la courbe étalon de l'acide gallique.

Les feuilles ont montré de plus fortes teneurs en polyphénols totaux aussi bien pour les extraits méthanoliques (LM =41,10 mg EqAG/g de la matière) qu'éthanoliques (43,5 mg EqAG/g de la matière). Les teneurs dans les fleurs sont largement plus faibles (FM= 27,5 mg EqAG/g de la matière ; FE = 20,2 mg EqAG/g de la matière).

Les teneurs des polyphénols des feuilles et des fleurs obtenues sont nettement inférieures aux teneurs obtenus chez la plante entière pour l'aneth cultivée à l'ouest du pays. Concernant les phénols totaux les teneurs sont de l'ordre de 133,06 à 138 mg/g p.s, pour la fraction des flavonoïdes elle est entre 57,95 et 59,03 mg/g p.s (Tifouri Benzina 2021) [28].

Selon Ksouri et al. (2015) [119], l'aneth spontanée, renferme des teneurs en composés phénoliques (phénols totaux, flavonoïdes) au niveau de la partie aérienne plus faibles que celles révélées dans l'aneth cultivée.

L'huile essentielle d'aneth présente diverses activités biologiques telles que antimicrobienne, antifongique, antioxydante, insecticide, anti-inflammatoire, antispasmodique, antidiabétique, anticancéreuse et anti-hypercholestérolémiant, en raison de la présence de

composés biologiquement actifs (Chahal et al., 2017) [112]. Elle est de ce fait, reconnue dans différents systèmes de médecines traditionnelles pour le traitement de différentes maladies et affections des êtres humains (Kaur et Arora, 2010) [120].

L'activité antioxydante a été évaluée par le biais de l'acide ascorbique considéré comme un très bon antioxydant de synthèse et utilisé de ce fait comme standard. Ainsi, le pourcentage d'inhibition des extraits de *Anethum graveolens* contre le DPPH, a été très élevé pour tous les extraits étudiés (LM=88.79% ; FM=90.32% ; LE=77.90% ; FE=89,60%). Ils sont inférieurs à celui du standard (97,42%).

D'une manière générale, les extraits de notre plante ont montré une efficacité intéressante pour l'inhibition du DPPH. En effet, à une concentration de 0,01 mg/ml, l'extrait FE enregistre un pourcentage de 59,52 % qui est supérieur à celui de l'acide ascorbique. Pour la concentration 0,1 mg/ml, c'est les extraits FE et LM qui se sont montrés les plus efficaces. Enfin, pour les concentrations de 1 mg/ml, et 10 mg/ml, c'est les extraits FE, FM et LM qui ont montré une efficacité pour réduire l'effet d'oxydation mais avec des pourcentages plus faibles que ceux de l'acide ascorbique.

Les feuilles, les graines d'aneth ainsi que leur huile essentielle ont montré de bonnes activités antioxydantes (Singh et al., 2005) [121]. Les antioxydants agissent comme des piègeurs de radicaux, inhibent la peroxydation des lipides et d'autres processus produits par les radicaux libres et sont capables de protéger le corps humain ainsi que les aliments transformés contre les dommages oxydatifs attribués à la réaction des radicaux libres. L'utilisation d'antioxydants synthétiques, dans les aliments est déconseillée en raison de leur potentiel carcinogène perçu et des problèmes de sécurité (Liu et Yao, 2007) [122], d'où l'intérêt des antioxydants d'origine naturelle.

Le radical organique stable DPPH a été largement utilisé pour la détermination de l'activité antiradicalaire pour tous les types de produits. En effet, L'activité de piégeage des radicaux libres des huiles essentielles d'*A. graveolens* évaluée par Singh et al. (2017) [123] à l'aide de la méthode DPPH a été de l'ordre de 75 %.

La quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre à 50 % est connue sous le nom de « IC 50 ». Elle est inversement liée à la capacité oxydante d'un composé.

L'extrait méthanolique des feuilles est le plus efficace avec une IC₅₀ de 0,009 mg/ml suivi par l'acide ascorbique (IC 50=0,014 mg/ml). Plus la valeur d'IC 50 est basse plus l'activité antioxydante du composé est grande.

Tifouri Benzina (2021) [28] a signalé que la concentration inhibitrice (CI₅₀) la plus élevée a été rapportée dans les graines de l'aneth soumise au stress salin ($1,94 \pm 0,05$ mg/ml), mais elle reste significativement inférieure à la concentration inhibitrice de l'acide ascorbique (standard) qui a enregistré une IC₅₀ de $0,12 \pm 0,02$ mg/ml.

Les travaux réalisés par Yung-Shin et al. (2009) [124] indiquent des valeurs inférieures pour la graine d'aneth (originale de Chine). Ces dernières sont de l'ordre de CI₅₀= 0,30 mg/ml pour l'extrait méthanolique.

Des études antérieures sur l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique des feuilles d'aneth originale de l'Inde enregistrent les valeurs de 1,93 mg/ml et 4,75 mg/ml pour l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique respectivement (Kaur et al., 2018)[125].

D'après les travaux de Shyu et al. (2009) [126], l'extrait de fleur présente une activité antioxydante plus élevée que les extraits de feuilles et de graines. Parmi les extraits de fleurs, l'extrait d'acétate d'éthyle a montré une activité maximale, suivi de l'extrait d'éthanol et d'hexane.

L'activité antioxydante de notre plante est due à la présence avérée des composés phénoliques.

Actuellement, l'utilisation d'antioxydants naturels à base de plantes, tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tocophérols dans les aliments, ainsi que la médecine préventive et thérapeutique, est de plus en plus reconnue. On pense que ces substances naturelles présentent un potentiel anti-cancérigène et offrent divers effets bénéfiques pour la santé en raison de leurs propriétés antioxydantes (Rathore et al 2013) [127].

Pour ce qui est de l'activité anti-inflammatoire, le plus fort taux de réduction de l'œdème au niveau des pattes de souris, est observé avec l'extrait aqueux des tiges (37.69 %) qui s'est montré plus performant que le Diclofenac sodique (21,58%).

Toutefois, bien que le meilleur taux de réduction de l'œdème a été enregistré par le diclofenac sodique (50,30%), nous pouvons retenir que les extraits des fleurs et des feuilles montrent des valeurs satisfaisantes de l'ordre de 35.12 % et 34.96 %.

L'extrait hydro alcoolique de graine d'aneth a provoqué une diminution significative de l'inflammation et de la douleur chez le rat. L'huile d'aneth a montré une diminution significative du volume des pattes chez les rats par rapport au groupe témoin (Valadi et al. 2010) [128].

Dans leur étude sur les effets anti-inflammatoires de l'aneth, Naseri et al. (2012) [129] ont signalé que l'huile d'aneth a provoqué une diminution plus importante du volume de la patte par rapport au diclofénac.

Les activités antimicrobiennes de l'huile essentielle et des différents extraits (LM, FM, LE, FE) contre les micro-organismes examinés dans la présente étude et leur puissance ont été qualitativement évaluées par la présence et le diamètre de zones d'inhibition.

Dans l'ensemble, l'aneth avec ses différents produits (extraits et huile) a montré des effets inhibiteurs sur les microorganismes étudiés (bactéries gram+, gram- et levure).

L'huile essentielle de l'aneth a montré une activité inhibitrice importante contre *Escherichia coli* et *Bacillus subtilis*. Ces résultats sont similaires à ceux de Nazish et al. (2008) [130] qui ont enregistré une activité antimicrobienne positive contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis* avec une zone d'inhibition de 7 à 9 mm.

Les extraits méthanoliques et éthanoliques ont présenté des activités antimicrobiennes efficaces contre les bactéries gram+.

Ces résultats concordent avec ceux d'Elgayyar et al. (2001) [131] et Singh et al. (2017) [123] qui ont souligné que le diamètre obtenu pour la zone d'inhibition était le plus élevé contre les bactéries gram positives. Ces mêmes auteurs ont mis en valeur l'efficacité de l'huile essentielle de l'aneth sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

L'effet antimicrobien positif des différents extraits et huile essentielle, enregistré sur la levure *Candida albicans* dans notre travail a déjà été signalé dans les travaux de Yili et al (2009) [132] avec l'huile essentielle des graines. Toutefois, nous signalons que Rasheed et al (2010) [133] ont noté que les extraits de feuilles n'ont montré aucune activité antibactérienne tandis que l'extrait de graines d'aneth a montré une inhibition de la croissance de *C. albicans* (zone d'inhibition de 19 mm).

Conclusion générale

La présente étude est le fruit d'une collaboration entre la faculté de Chimie (Université Saad Dahleb Blida 1), le département de foresterie et protection de la nature de l'école nationale supérieure agronomique (ENSA, Alger) et le centre de recherche et de développement (CRD) SAIDAL (Gue de Constantine).

Elle s'inscrit dans un axe de recherche national relatif au développement et valorisation des ressources naturelles notamment les plantes aromatique et médicinales.

Ce modeste travail a pour principal objectif la contribution à la valorisation de l'aneth (*Anethum graveolens*) espèce appartenant à la famille des Apiacées.

Le recours à différentes techniques d'extractions et d'analyses nous a permis d'obtenir un infusé, des extraits méthanoliques et éthanoliques par sonication ainsi que l'huile essentielle par entraînement à la vapeur, à partir de la plante entière et des différentes organes aériens à savoir les feuilles, les fleurs et les tiges.

Une fois le screening réalisé pour les différents produits issus des différents organes, nos efforts ont porté sur leur valorisation par le biais de la mise en évidence de leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et anti-inflammatoires.

La composition en métabolites de l'aneth s'est avérée assez riche (tanins, tanins galliques, tanins catéchétiques, coumarines, flavonoïdes, alcaloïdes, anthocyanes) avec des teneurs de composés variables dans les différents organes (feuilles, les fleurs et les tiges). Les glucosides sont totalement absents. Les feuilles se distinguent par la présence des Quinones libres alors que les leuco-anthocyanes n'ont été trouvés que dans les fleurs. Les feuilles d'aneth sont plus riches en polyphénols que les fleurs.

Les rendements des extraits méthanoliques des feuilles et des fleurs sont plus importants (de l'ordre de 30%) que ceux des extraits éthanoliques qui avoisinent les 20%. Par contre le rendement en huile essentielle pour la plante entière est considéré comme assez faible (0,05%).

Les teneurs de polyphénol étaient plus importante dans les extraits des feuilles (LM =41,10 mg EqAG/g de la matière et LE=43,5 mg EqAG/g de la matière) par rapport aux teneurs trouvées dans ceux des fleurs (FM= 27,5 mg EqAG/g de la matière ; FE = 20,2 mg EqAG/g de la matière).

Le pouvoir antioxydant des extraits de l'aneth a été mis en évidence et s'est avéré très élevé notamment contre le DPPH avec une CI50 de 0,009 mg/ml inférieure à celle de l'acide ascorbique (IC 50=0,014 mg/ml).

L'aneth présente une activité anti-inflammatoire non moins importante. L'effet de l'extrait des tiges (37.69 %) a été plus élevé que celui du Diclofenac sodique (21,58%) sur la réduction des œdèmes chez la souris.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et des extraits (LM, FM, LE, FE) a été également déterminée. L'huile essentielle de l'aneth et les extraits queux possèdent une importante activité antimicrobienne vis-à-vis des microorganismes testés.

Les résultats de ce modeste travail se montrent prometteurs pour le développement de l'aneth (*Anethum graveolens*) comme plante pourvoyeuse de substances naturelles qui pourraient être utilisées comme alternative plus sûre aux produits chimiques synthétiques.

Enfin, d'autres travaux et recherches sont nécessaires pour enrichir et approfondir les résultats obtenus sur les potentialités phytochimiques de l'aneth.

Références bibliographiques

- [1] Petrovska, B. et al. 'Historical Review of Medicinal Plants Usage'. *Pharmacognosy Reviews*, (2012). p.6, 1-5.
- [2] OMS, publications régionales. Série européenne. n° 97 (2002).
- [3] Fabricant, D.S., Farnsworth, N.R. 'The Value of Plants Used in Traditional Medicine for Drug Discovery'. *Environmental Health Perspectives*, (2001). P .109, 69-75.
- [4] Tabanca, N. Demirci, B. Ozek, T. Kirimer, N. Baser, K. Bedir , E. and Wedg, D. 'Gas chromatographic mass spectrometric analysis of essential oils from *Pimpinella* species gathered from Central and Northern Turkey'. *Journal of Chromatography*, (2006) .1117 (02) ,194-205.
- [5] Deysson, G. 'Organisation et classification des plantes vasculaires'. Cours de Botanique générale 4ème série, Tome II, (1979). Paris. p. 529.
- [6] Spichiger, R. 'Botanique systématique des plantes à fleurs. 1ere Edition'. Presses Polytechniques et Universitaires, (2004). Romandes, Suisse. p. 80.
- [7] Aouadj, A . 'Thèse de master Dosage biochimique et étude de l'activité anticoagulante des extraits hydro-alcoolique d'une plante médicinale', (2019).
- [8] Doneanu C, Anitescu G. 'Supercritical carbon dioxide extraction of *Angelica archangelica* L. root oil, *J. Supercrit. Fluids*'. (1998). (12): 59-67.
- [9] Tirapelli et al. 'Effets antispasmodiques et relaxants de l'extrait hydroalcoolique de *Pimpinella anisum* (Apiaceae) sur le muscle lisse anococcygien du rat'. *Journal d'ethnopharmacologie* .V .110, N .1 . (2007). P23-29
- [10] Ravindran, P. N.' *The Encyclopedia of Herbs and Spices*'. Boston CAB, V. I, 1128pp. (2017) ISBN: 978 1 78639 114 8.
- [11] Janeen , W. 'The Herb Society of America's Essential Guide to Dill'. Kirtland, Ohio: The Herb Society of America. (2009).
- [12] Jana, S, Shekhawat GS. 'Phytochemical Analysis and Antibacterial Screening of in vivo and in vitro Extracts of Indian Medicinal Herb: *Anethum graveolens*'. *Res. J. Med. Plant*. (2010) .4(4).206-212.

- [13] Fhayli,w, 'Thèse de doctorat 'Evaluation de l'action de traitements chroniques par l'extrait d'aneth ou le minoxidil en tant que nouvelles pharmacothérapies antivieillessement du système cardiovasculaire chez la souris', Université Joseph l'École Doctorale Chimie Sciences du Vivante (2013).
- [14] Ozliman S. Yaldiz G. Et al .'Chemical components of essential oils and biological activities of the aqueous extract of *Anethum graveolens L.* grown under inorganic and organic conditions, Chem. Biol. Technol. Agric. (2021), 8-20.
- [15] Menglan, S. and Watson, M. E. *Anethum graveolens*, L. Flora of China. (2005):<http://www.efloras.org/com>.
- [16] Quezel ,P. et Santa, S. 'Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales'. Tome 1, Edition CNRS. (1962). Paris. p. 653.
- [17] Menglan, S. Fading, P. Zehui, P. Watson, MF. Cannon, JFM. Holmes-Smithje et coll. 'Apiacées (Ombellifères)'. Flore de Chine. (2005). pages 1–205
- [18] <https://www.tela-botanica.org/bdtfx-nn-4900-synthese>
- [19] Lamendin H.' Soignez votre bouche par les plantes : remède d'hier et aujourd'hui'. 5ème Ed. L'Harmattan. (2007) .Paris. p.34
- [20] Orhan, I.E. Senol, F.S. Ozturk, N. Celik, S.A. Pular, A. Kan, Y. 'Phytochemical contents and enzyme inhibitory and antioxidant properties of *Anethum graveolens L.* (dill) samples cultivated under organic and conventional agricultural conditions'. Food and chemical toxicology, Vol. 59. (2013). pages 96-103
- [21] Mansouri M, Nayebi N, Keshtkar A, Hasani-Ranjbar S, Taheri E, Larijani B . 'The effect of 12 weeks *Anethum graveolens* (dill) on metabolic markers in patients with metabolic syndrome; a randomized double blind controlled trial'. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 4 ; 20 (1) : 47 (2012)
- [22] Polese J.M (2006). 'La culture des plantes aromatiques. Editions Artémis' , 93 p.
- [23] Pulliah,T. 'Medicinal Plants in India'. Vol. 1. New Delhi: Regency Publications New Delhi.(2002). Pages 55-6.
- [24] Radelescu V, Popescu ML, Ilies D. ' Chemical composition of the volatile oil from different plant parts of *Anethum graveolems L.* (Umbelliferae) cultivated in Romania'. Farmacia; (2010) 58(5):594-600

- [25] Mahmoodi Z, Soltani et al, 'Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils and Extracts from *Rosmarinus officinalis*, *Zataria multiflora*, *Anethum graveolens* and *Eucalyptus globulus*', *Global Veterinaria* V.9 (1),2012, 73-79
- [26] RAMADAN.M et. Abd-Algaderd.N &al; 'Volatile compounds and antioxidant activity of the aromatic herb *Anethum graveolens*', *Journal of the Arab Society for Medical Research* V.8,(2013), 79–88
- [27] Al-snafi .A 'the pharmacological importance of anethum graveolens.a review', *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* V.6, (2014), 0975-1491.
- [28]Tifouri Benzina.Z, Etude écophysiological et valorisation des plantes condimentaires dans l'Ouest Algérien cas (*d'Anethum graveolens*). Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbas (2021).
- [29] Bahramikia & Yazdanparast. 'Efficacité de différentes fractions de feuilles d'*Anethum graveolens* sur les lipoprotéines sériques et le statut oxydatif sérique et hépatique dans des modèles de rats hypercholestérolémiques induits expérimentalement'. *Journal American de la médecine chinoise* V.37 n°4 .(2009).pages 685-699.
- [30] Hussein AH, Said-Al Ahl, Atef MS, Abou DM, Abou-Zeid N, Mohamed SA et al. – 'Essential oils of *Anethum graveolens* L. Chemical composition and their antimicrobial activities at vegetative, flowering and fruiting stages of development'. *International Journal of Plant Science and Ecology*: (2015) 1(3):98-102.
- [31] Khani,A. basavand,F. 'chemical composition and insecticide activity of essential oil from dill seeds'. *International Journal of Agriculture: Research and Review*. Vol. 3 , n°3.(2013). Pages 489-494.
- [32] Kaur.GetArora, J. 'Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculumvulgare* and *Trachyspermumammi*'. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. Vol.9.(2009).pages 1472-6882.
- [33] Michał Świeca. UrszulaGawlik-Dziki.'Influence of thermal processing on phenolics compounds level and antiradical activity of dill (*Anethum graveolens* L.)', *Department of Biochemistry and Food Chemistry University of Life Sciences* .Vol. 54 ,n°3.(2008).

- [34]. Melinda NAGY, Maria TOFANĂ & al, 'Total Phenolic, Flavonoids and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plants'. Bulletin UASVM Food Science and Technology 71(2) ; (2014). 2344-5300
- [35] Kerrouri,S. Ould Abdellah,L & al. 'Quantitative study of root the plant (*Anethum graveolens*) and evaluation of their antioxidant activity'. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.vol. 6, n°5.(2017).pages 2735-2740.
- [36] Dahdouh& Boudiaf. Thèse de master '*Anethum graveolens* L. : huiles essentielles, composés phénoliques et activité antioxydante'. universite l'arbi ben mhidi oum el bouaghi. (2018).
- [37]Souri, E., Amin, G. Farsam, H. and Andaji, S. 'The antioxidant activity of some commonly used vegetables in Iranian diet'. Fitoterapia. vol.75, n°6.(2004).pages 585–588.
- [38]Panda, S. 'The effect of *Anethum graveolens* L. (dill) on corticosteroid induced diabetes mellitus, involvement of thyroid hormones'. Phytother Res. (22-12-2008),pages 1695–1697.
- [39]Satyanarayana, S. Sushruta, K. Sarma, G. S. Srinivas, N. and Subba-Raju, G. V. 'Antioxidant activity of the aqueous extracts of spicy food additives – evaluation and comparison with ascorbic acid in in-vitro systems' . J. HerbPharmacother, 4(2) ,(2014) .pages1–10.
- [40] Padrini F. et Lucheroni M.T. ' Le grand livre des Huiles Essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien être et beauté avec les essences et l'aromassage'. Energétiques avec plus de 100 photographies. Ed de Vecchi.(1996). Paris.
- [41] Michalis, K. StephanaKis,T. Anastasboulo, S. GhanataKis, D. 'Antibacterial activity of essential oil from plants of Genus *origanum*'. Food control,Vol.34. (2013). pages 539-546
- [42] Bonnafous, C. 'Traité scientifique Aromathérapie – Aromatologie & aromachologie'. (2013).
- [43] Bruneton, J. 'Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3 eme édition'. Paris Editions médicales internationales. Tec et Doc Lavoisier. (1999). p 1120.
- [44] AFNOR. 'Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1) - Monographies relatives aux huiles essentielles' (Tome 2. Volumes 1 et 2). (Mars 2000).

- [45] Djarri L. 'Contribution à l'étude des huiles essentielles et des métabolites secondaires de trois plantes Algériennes de la famille des Apiaceae, *Daucus reboudii* Coss. Ex Batt. Trab., *Kundmanniasicula* (L.) DC., et *Elaeoselinum thapsioides* Maire'. Thèse de doctorat en chimie organique, Université Mentouri, Constantine. (2011). P 267.
- [46] Bruneton, J. 'Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales'. Tec & Doc. 4^{ème} Ed Lavoisier. (2009). Paris.
- [47] Hatanaka, A. Kajiwara, T. Sekiya, J. 'Chem. Phys. Lipids, Biosynthesis pathway for C6-aldehydes formation from linolenic acid in green leaves', (1987), pages 341-361.
- [48] Svoboda, KP. Svoboda, TG. Syred, AD. 'Secretory structures of aromatic and medicinal plants: a review and atlas of micrographs'. 60 pp incl. plates. Knighton, Powys: Microscopix Publications. *Annals of Botany* 86. (2000). pages 1199-1200.
- [49] Oussalah, M. Caillet, S. Saucier, L. Lacroix, M. 'Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat- *Meat Science*'. Vol. 73. (2006). pages 236-244.
- [50] Thompson, J.D. Chalchat, J.C. Michet, A. Linhart, Y.B. 'Ehlers B- Qualitative and quantitative variation in monoterpene co-occurrence and composition in the essential oil of *Thymus vulgaris* chemotypes'. *Journal of Chemical Ecology*. Vol. 29, n°4. (2003).
- [51] Fellah, S. Romdhan, M. Abderrab, M. 'Extraction et étude des huiles essentielles de la *Salvia officinalis* L cueillie dans deux régions différentes de la Tunisie'. *Journal de la Société Algérienne de Chimie J. Soc. Alger. Chin.* Vol. 16. n°2. (2006). pages 193-202.
- [52] Dunford, N.T. Vazquez, R.S. 'Effect of water stress on plant growth and thymol and carvacrol concentrations in Mexican oregano grown under controlled conditions'. *Journal of Applied Horticulture*. Vol. 7. n°1. (2005). pages 20-22.
- [53] Bakkali, F. Averbeck, S. Averbeck, D. Review MI. 'Biological effects of essential oils'. A review *Food and Chemical Toxicology*. Vol. 46. (2008). Pages 446-475.
- [54] Sokmen, A. Gulluce, M. Akpulat, H.A. Daferera, D. Tepe, B. Polissiou, M. Sokmen, M. Svoboda K.P. 'Secretory structures of Aromatic and medicinal plant'. Microscopix Publications. Powys, UK. (2000).

- [55] Lozeine, K. Venskutonis, P.R 'Influence of environmental and genetic factors on the stability of essential oil composition of *Thymus pulegioides*'. *Biochemical Systematics and Ecology*; Vol. 33. (2005). pages 517-525.
- [56] Charpentier, B., HamonLorleach, F. Harly, A. Huard, A. Ridoux, L. eT Chanselle, S. 'Guide du préparateur en pharmacie'. 3eme édition, Elsevier. (2008). p1358.
- [57] Sell, C.S 'The Chemistry of Fragrance'. From Perfumer to Consumer. 2eme edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. (2006). p 329
- [58] Bernard, J. K. Amos, H. E. Froetschel, M. A.' Influence of supplemental energy and protein on protein synthesis and crude protein reaching the abomasum'. *J. DairySci.* 71 (10).(1988),pages 2658–2669.
- [59] Kansole, M.M.R. 'Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina Faso: cas de *Leucasmartinicansis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundiaopposstavahl* et *Orthosiphonpallidusroyle* ex benth'. Mémoire pour obtenir un diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso. (2009).
- [60] Garcia, J. Carabano, R. de Blas, C. 'Effect of fiber source on cell wall digestibility and rate of passage in rabbits'. *J. Anim. Sci.* 77. (1999),pages 898–905
- [62] Lebham. 'Mémoire du Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM)'.Université de Bretagne Occidentale (UBO). (2005).
- [63] Lugasi A. Hovari J. Sagi, K V. and Biro L. 'The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases'. *Acta Biologica Szegedientsis.* (2003),pages 119-125.
- [64] Merghem R.' 'Elément de biochimie végétale (à l'usage des étudiants en pharmacie,sciences alimentaire, science de la nature et de la vie)'.Bahaeddine éditions. (2009). pages116-117
- [65] Bruneton, J. 'PharmacognosiE .Phytochimie.PLANTES Médicinal impr.(1997),pages 31- 338
- [66] Eberhard,T. Robert,A . et Annelise L. 'Plantes aromatiques, épices aromates, condiment et huiles essentielles'. Tec et Doc. (2005). Lavoisier. Paris. France.

- [67] BADIAGA M. 'Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali'. Thèse de docteur D'université Mali.(2012).
- [68] Jutiviboonsuk, A. Zhang, H. Tan, T.G. Ma, C. and Van Hung , N.' Bioactive constituents from root of *Burse ratonkinensis*'. *Phytochemistry* 66. (2005).pages 2745-2751.
- [69] Stefanova ,T. Nikolova ,N. Michailova, A. Mitov ,I. Iancovii. Zlabinger, G. I. and Neychev, H..' Enhancedresistance to *Salmonella entericserovartyphimurium* infection in mice after coumarin treatment'. *Microbes and infection*. (2007). pages 7-14.
- [70] Stevens, J.F. Miranda, C.L. and Buhler, D.R. and Deinzer, M. L. 'Chemistry and biology oh hop flavonoids'. (1998).p 1204.
- [71] Rajnerayanama, K. ReddyM. Charluvadi, M. R. and Krishna, D. R. 'Bioflavonoids: Classification, pharmacological, biochemical effect and the rapeuticpotential'. *Indian Journal of Pharmacology*. 33. (2001).pages 2-16.
- [72] Fuhrman, B. Lavy, A. and Aviram, M.' Consumption of redwine with mealsreduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation'. *Am.J.Clin. Nutr.* Vol.61. (1995).pages 549-554.
- [73] Nass,N; 'contribution à l'étude phytochimique de la plante *tetracilinis articulata* activité biologique te biochimique de la plante' thèse de magister 2009
- [74] Alloun, K. 'mémoire composition chimique et activités antioxydante et antimicrobiénne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L.), de la sauge (*salvia officinalis* L.) et de la rue des montagnes (*Rutamontana* L.)'.(2013).
- [75] Vansant. 'Radicaux libres et antioxydants : principes de base. Symposium «Antioxydants et alimentation ». (2004).
- [76] Mohammedi, Z. 'Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie', thèse : biologie. Université Abou BekrBlkaid, Tlemcen. Algérie. (2013). p 160.
- [77] Benahmed, F. 'Stress oxydatif chez des plantules de *Vicia faba* L. soumises à différentes contraintes abiotiques : stress salin, stress hydrique et stress aux métaux lourds'. (2010).

- [78] Souilah, N. 'Etude de la composition chimique des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien'. Thèse de doctorat. Université des frères Mentouri Constantine. (2018). p 21.
- [79] Sies, H. Role of reactive oxygen species in biological processes. *klinische Wochenschrift*, 69(21-23), pages 965-968
- [80] S. B. Kedare and R. P. Singh, 'Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay'. *J. Food Sci. Technol.* vol. 48, n° 4. (2011). Pages 412–22.
- [81] Sayed ahmad, B. 'Etude de l'agro raffinage de graines d'*Apiaceae*, *Lamiaceae* et *Chenopodiaceae* pour la production de molécules biosourcées en vue d'application en industrie cosmétique. (2018).
- [82] A. Klančnik, S. Piskernik, B. Jeršek, and S. S. Možina, 'Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts,' *J. Microbiol. Methods*, vol. 81, n° 2. (2010). pages 121–126.
- [83] Nauciel, C. & Vildé, J. *Bactériologie médicale*, 2ème édition. Masson. (2005). Paris. Pages 5-10.
- [84] Patrick, B. Jean, L. Michel, S. *Bactériologie: Les bactéries des infections humaines*. 1ère éditions Médecine-Sciences Flammarion. Paris. (1998). Pages 100-108.
- [85] Bounihi, A. 'Criblage phytochimique, Etude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées)'. Thèse de doctorat. Université Mohammed v Rabat. (2016). p 72.
- [86] <https://www.istockphoto.com/Photo> des bactéries
- [87] Jeannot, K. Guillard, T. 'Pseudomonas *aeruginosa*' <https://www.sfm-microbiologie.org>. (2019).
- [88] BingyaoZhu, Jörg Stülke. *Subti Wiki*. 'Des gènes et protéines à l'annotation fonctionnelle du réseau de l'organisme modèle *Bacillus subtilis*'. *Recherche sur les acides nucléiques*, vol. 46. n° D1. (2018). Pages D743–D748.
- [89] Barton, G M. 'A calculated response: control of inflammation by the innate immune system'. *J Clin Invest.* (2008). Pages 413-420.

- [90] Ferradji A. ‘Mémoire Activités antioxydante et anti-inflammatoire des extraits alcooliques et aqueux des feuilles et des baies Pistacialentiscus’. (2011).
- [91] Khacheba,R ; ‘Cartographie de la salinité du sol évaluée par induction électromagnétique « Géonics EM38 »’, (2011)
- [92] Le séchage - ppam herboristerieFT-Sechage(2020).
- [93] ANONYME1 protocole de la perte a la dissication du CRD saidal.
- [94] Bruneton J. ‘ Pharmacognosie. Phytochimie et Plantesmédicinales’. Tec. & Doc.Lavoisier, 2ème édition. (1993). Paris. p 915
- [95] Harborne, A. J. ‘Phytochemical methods a guide to modern techniques of plant analysis’. Springer science & business media. (1998).
- [96] ANONYME. Le mode opératoire de CRD Saidal sur le fonctionnement d’extracteurpilote. (2013).
- [97] Dewanto, V. Wu, X., Adom, K.K. Liu, R.H. ‘Thermal processing enhances thenutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity’. J. Agric.Food Chem. Vol.50. (2002).pages 3010–3014.
- [98] Chetoui, I. Messaoud, C. Boussaid, M. Zaouali, Y. ‘Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content variationamong Tunisian natural populations of Rhustripartita (Ucria) GrandeandRhuspentaphyllaDesf’. Elsevier Journal. (2013). pages 171– 177.
- [99] Ojeil, A. El Darra, N. El Hajj, Y. Bou Mouncef, P. Rizk, T.J. et Maroun, R.G. ‘Identification et caracterisation de Composes phenoliques extraits du Raisin chateauxsara’. Lebanese Science Journal,Vol .11. (2010). p 2.
- [100] Collin, S et Crouzet, J. Polyphénols et procédés. Paris: Lavoisier. (2011). p 333.
- [101] Nguyen V T, ‘Evaluationof polyphenol content and antioxidant activities of Dill leaves extract *Anethum graveolens*’ LIOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 991 (2020). 012032.
- [102] Serigne,I. ‘Evaluation de l’activité antioxydante des extraits hydro-ethanoliques des feuilles et écorces de PiliostigmathonningiiSchumachInt’. J. Biol. Chem. Sci. (2017).11(2): pages 768-776
- [103] <http://chimactiv.agroparistech.fr/>

- [104] Molyneux , P. 'The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity'. Songklanakarin J. Sci. Technol. (2004). Vol.26, n°2.pages 211-219.
- [105] Colot, M. 'Notion technique de pharmacologie générale, Procédure de gestion des documents et des données'.1 édition. (1972).
- [106] Chao S.C. Young, D.G. & Oberg ,G.J. Screening for Inhibitory Actvity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. J. Essent. OilRes. (2000) vol. 12. Pages 639-649.
- [107] Ozcan.M, et Osman Sagdic. 'Antibacterial activity of Turkish spice hydrosolsFood Control' 14. (2003).pages 141–143.
- [108] Chabrier JY. 'Plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie'. Thèse de Pharmacie, Sciences du Vivant [q-bio] / Sciences Pharmaceutiques, Université Henri Poincare, Nancy (2010)
- [109] Shyu YS, Lin JT, Chang YT, Chiang CJ, Yang DJ. 'Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.)' flower. Food Chemistry; (2009) 115(2):515-521
- [110] Dahiya P and Purkayastha S. 'Phytochemical analysis and antibacterial efficacy of dill seed oil against multi-drug resistant clinical isolates'. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research; (2012) 5(2):62-64.
- [111] Pathak V, Dwivedi R, Shukla P. 'Pharmacognostical study of *Anethum sowa* (dill) seed'. International Journal of Recent Biotechnology; (2014) 2(3):6-14.
- [112] Chahal, K. K., Kumar, A., Bhardwaj, U., & Kaur, R. Chemistry and biological activities of *Anethum graveolens* L . (dill) essential oil : A review. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, (2017). 6(2), 295–306.
- [113] Kollab, W.A. and S.M. Alamen (2018) - Qualitative and quantitative screening of the chemical components for selected medicinal plants from Libya. Journal of Medicinal Plants, 6(1): p. 92-95.

- [114] Szopa A, Ekiert H 'The importance of applied light quality on the production of lignans and phenolic acids in *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill. Cultures in vitro'. *Plant Cell Tissue Organ Cult* (2016) 127:115–121
- [115] Vokk R, Lougas T, Mets K, Kravets M. (2011) - Dill (*Anethum graveolens* L.) and parsley (*Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss) from Estonia: Seasonal differences in essential oil composition *Agronomy Research*; 9:515-520.
- [116] Santos PAG, Figueiredo CA, Lourenço PML, etal. - Hairy root cultures of *Anethum graveolens* (dill): Establishment, growth, time- course study of their essential oil and its comparison with parent plant oils. *Biotechnology Letters*; (2002) 24:1031–1036.
- [117] Ruagamart A, Buranaphalin S, Temsiririrkkul R, Chuakul W, Pratuangdejkul J. 'Chemical compositions and antibacterial activity of essential oil from dill fruits (*Anethum graveolens* L.) cultivated in Thailand'. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*; (2015) 42(3):135-143
- [118] Khaldi A, Meddah B, Moussaoui A, Sonnet P, Akermym MM. 'Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Anethum graveolens* L. from South- western Algeria (Bechar)'. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*; (2015) 7(9):615-620.
- [119] Ksouri A., Dob T., Belkebir A., Lamari L., Krimat S., Metidji H.'Total Phenolic,Antioxidant, Antimicrobial Activities and Cytotoxicity Study of Wild *Anethum graveolens* L', *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*,(2015) 7(6), pp 1025-1032, 2015.
- [120] Kaur GJ, Arora DS.'Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculumvulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family *Umbelliferae*' Current status. *Journal of Medicinal Plants Research*. (2010) 4(2):87-94.
- [121] Singh G, Maurya S, de Lampasona MP, Catalan C. 'Chemical constituents, antimicrobial investigations, and antioxidative potentials of *Anethum graveolens* L. essential oil and acetone extract'. *Journal of Food Science*; (2005) 70(4):208-215.
- [122] Liu, Q., Yao, H. 'Antioxidant activities of barley seeds extracts'. *Food Chem.* (2017)102: 732-37.

- [123] Singh S, Das S, Singh G, Perotti M, Schuff C, Catalan C. ‘Comparative studies of chemical composition, antioxidant and antimicrobial potentials of essential oils and oleoresins obtained from seeds and leaves of *Anethum graveolens* L’. Toxicol Open Access; 2013(1): 2-9.
- [124] Yung-Shin S, Jau-Tien L, Yuan-Tsung C, Chia-Jung C, Deng-Jye Y ‘Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower’. Food Chem (2009)115(2):515–521
- [125] Kaur, N., Chahal, K. K., Singh, R. and Urvashi. ‘Phytochemical screening and antioxidant activity of *Anethum graveolens* L. seed extracts’. J. Pharma. Innov. (2018). 7 (6), 324-329
- [126] Shyu YS, Lin JT, Chang YT, Chiang CJ, Yang DJ. ‘Evaluation of antioxidant ability of ethanolic extract from dill (*Anethum graveolens* L.) flower’. Food Chemistry; (2009) 115(2):515-521.
- [127] Rathore SS, Saxena SN, Saxena R, Tilak R ‘Analysis of medicinally important compounds and anti-oxidant activity in fixed and essential oil of dill (*Anethum graveolens* L.) genotypes’. Intern J Seed Sci (2013) 3: 12-15
- [128] Valadi A, Nasri S, Abbasi N, Amir GR. ‘Antinociceptive and anti-inflammatory effects of hydroalcoholic extract from the seed of *Anethum graveolens* L’. Journal of Medicinal Plants; (2010) 9(34):124-130.
- [129] Naseri M, Mojab F, Khodadoost M, Kamalinejad M, Davati A, Choopani R et al. ‘The study of anti-inflammatory activity of oil-based dill (*Anethum graveolens* L.) extract used topically in formalin-induced inflammation male rat paw’. Iranian Journal of Pharmaceutical Research; (2012) 11(4):1169-1174.
- [130] Nazish B, Muhammad A, Umer F. ‘Characteristics of *Anethum graveolens* (Umbelliferae) seed oil: Extraction, composition and antimicrobial activity’. International Journal of Agriculture and Biology; (2008) 10(3):329-332.
- [131] Elgayyar;M et al ‘antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms, journal of food protection Vol. 64;No. 7;(2001),Page 1019-1024

[132] Yili A, Aisa HA, Maksimov VV, Veshkurova ON, Salikhov ShI. 'Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil from seeds of *Anethum graveolens* growing in Uzbekistan'. *Chemistry of Natural Compounds*; (2009) 45(2):280-281

[133] Rasheed EM, Hamudi M, Kreem MR. 'Antimicrobial activity and the medianlethal dose of dill (*Anethum graveolens*) extract'. *Diyala Agricultural Science Journal*; (2010) 2(1):16-27.

Annexe1

Réactifs	verreries	appareillages
Ethanol	Ballon	Balance de précision
Méthanol	Pipettes pasteurs	Micropipettes
Acide chlorhydrique	Eprouvettes	Plaque chauffante
Ammoniaque	Erlenmeyer	Disque 9nm
propanol	Bécher	Boites de pétries
éther chloroforme	Tube a essais	Agitateur
solution alcoolique de KOH	Entonnoirs	Bec benzène
Copeau de magnésium	Spatule	Portoir
Alcool isoamylique	Fioles jaugées	Etuve
Acide sulfurique	Verre de montre	Lampe UV
Chlorure ferrique 5%	Flacons en verre	Broyeur électrique
Acétate de sodium	Pince	Rotavapeur
Chloroforme	Anses de platine	Epindoffs
Hydroxide de soduim	Papier filtre	Incubateur
Réactif de stiansy		
Réactif dragendorff		
Réactif folin-Ciocalteu		
Carbonat de sodium		
L'eau physiologique		
Chlorure de sodium		

Annexe 2

Préparation des solutions :

Ammoniaque (1/2) : A 30 ml d'ammoniaque concentrée ajouté 30 ml d'eau distillée.

Hydroxyde de potassium à 10% : 10 g d'hydroxyde de potassium sont dilués dans 100ml d'eau distillée.

Chlorures ferrique à 5% : 5 g de chlorures ferriques sont dilués dans 100ml d'eau distillée.

Éther chloroforme (3/1) : Mélange de 60 ml d'éther et de 20 ml de chloroforme.

Réactif de Stiansy : Mélange de 50ml de formol et de 25ml d'acide chlorhydrique 1N.

Dragendorff :

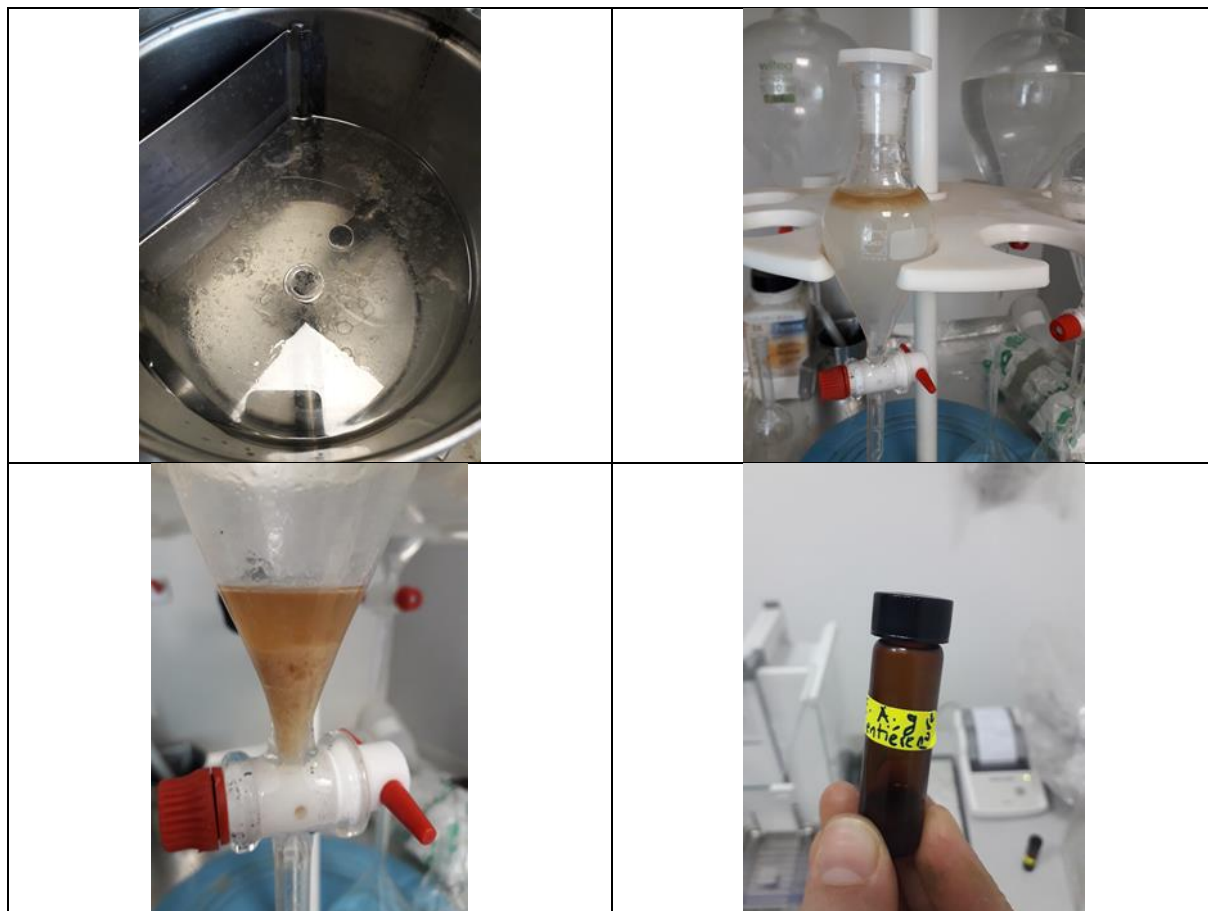
Solution A : dissoudre 0,85g de sous nitrate de bismuth dans un mélange composé de 10ml d'acide acétique glacial et de 40ml d'eau distillée.

Solution B : dissoudre 8g d'iodure de potassium dans 20ml d'eau distillée.

Immédiatement avant l'emploi, mélanger 15ml de la solution A et 15ml de la solution B, puis ajouter 20ml d'acide acétique glacial et compléter à 100ml avec de l'eau distillée.

Annexe 3 résultats d'extraction d'huile essentielle

L'huile essentielle de l'*Anethum graveolens*

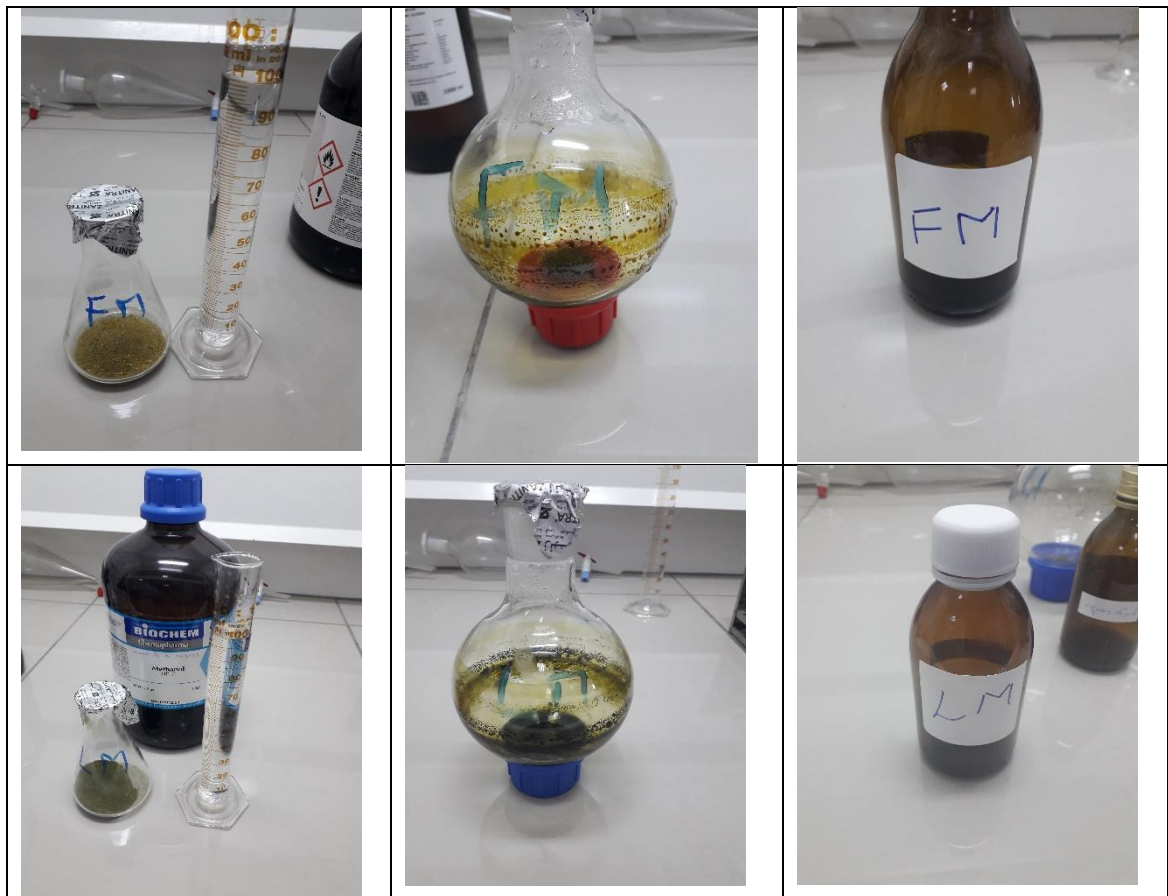


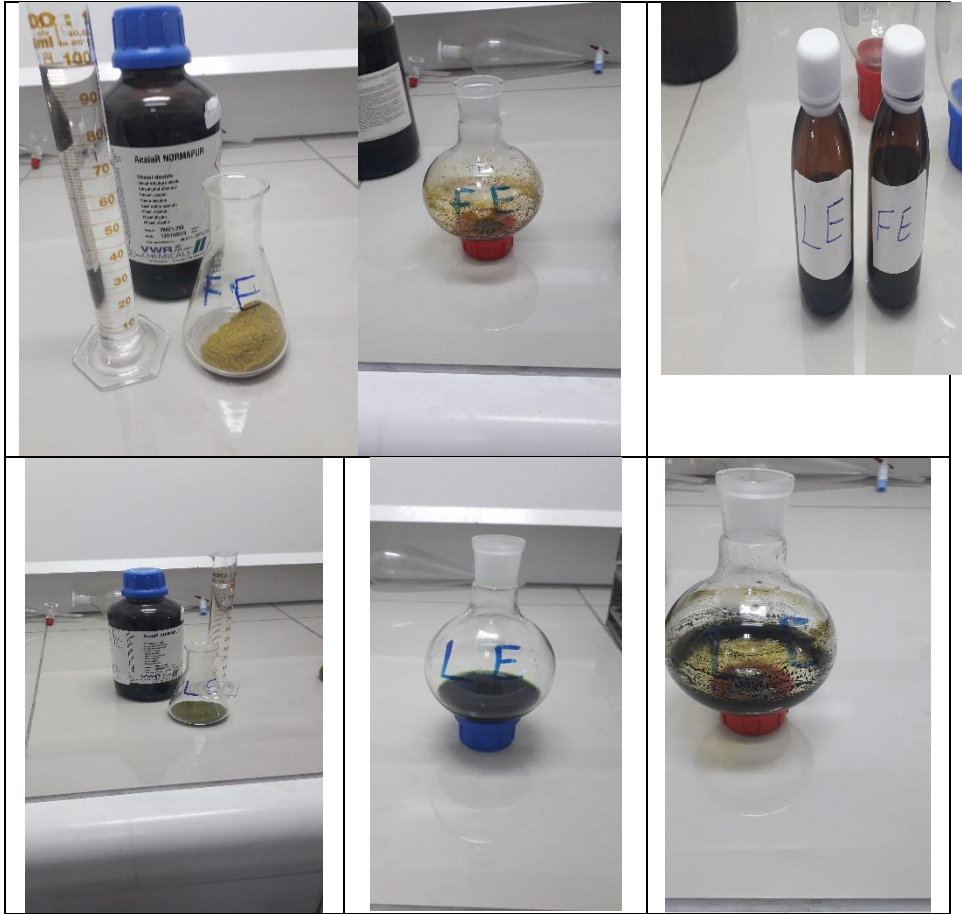
Annexe 4 : les résultats des extraits

- Résultats de broyage

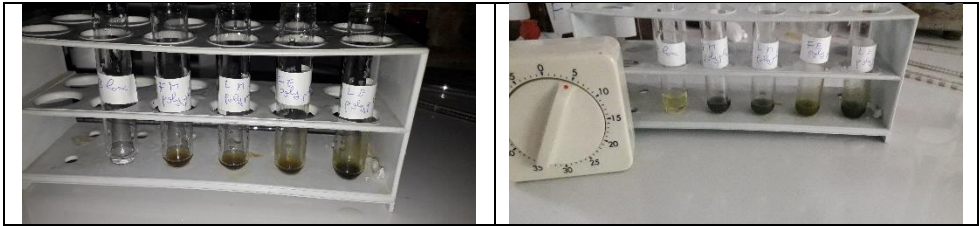


- Préparation des extraits

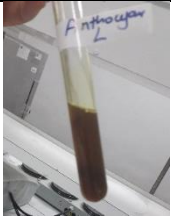






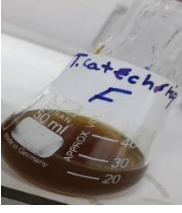




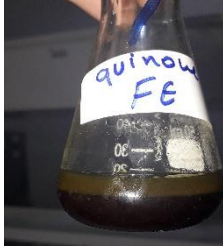
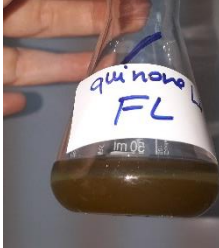
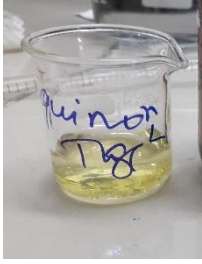

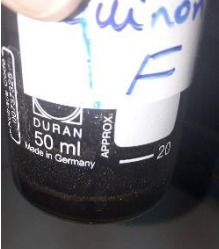




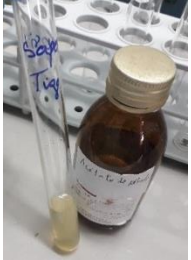

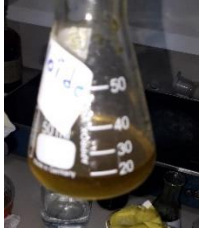
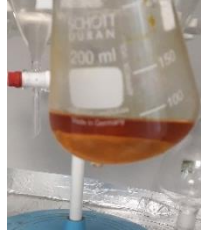


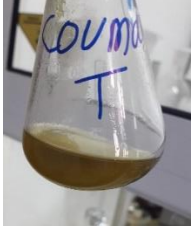


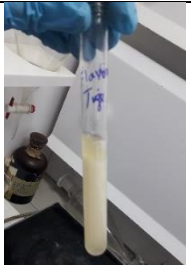
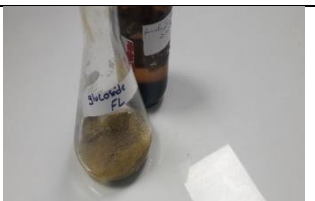

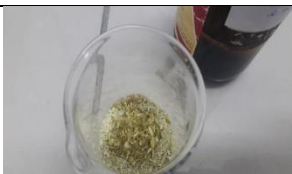


Annexe 5 : résultat d dosage des polyphénols totaux

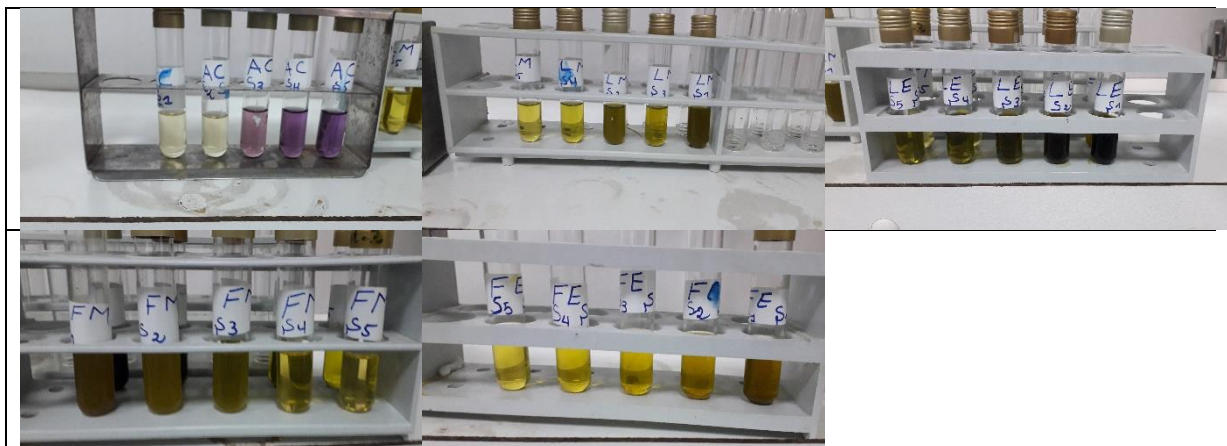


Annexe 6 : résultats de screening chimique

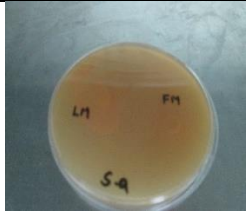






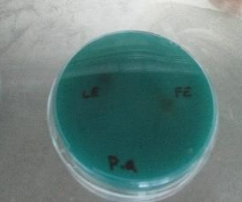
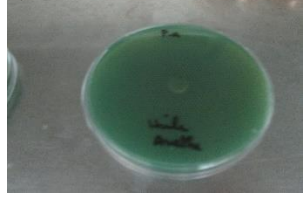
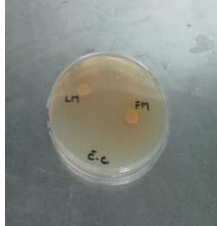
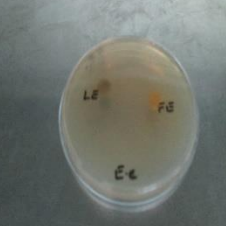

Teste	Feuilles	Fleurs	Tiges
anthocyanes			
Leuco-anthocyanes			
tanins			
T.cathéchétiques			
T. gallique			
Quinones libre			
quinones combinés			

saponosides			
alcaloïdes			
coumarines			
flavonoïdes			
glucosides			

Annexe 7 : Résultats de l'activité antioxydante



Annexe 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne

Bactérie	LM	FM	LE	FE	HE
<i>Staphylococcus aureus</i>					
<i>Bacillus subtilis</i>					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					
<i>Escherichia coli</i>					
<i>Candida albicans</i>	