

République Algérienne Démocratique et Populaire
Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem
Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie



UNIVERSITÉ
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Département de Biologie

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN SCIENCE BIOLOGIQUE

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par

**ZOUINI Rania
&
NEHARI Ikram**

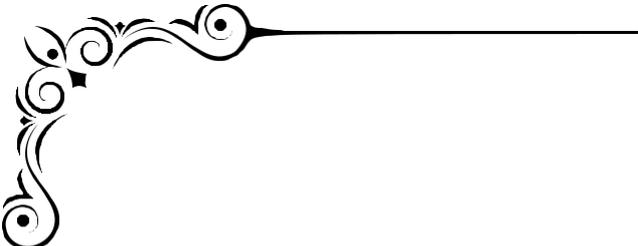
Thème :

**Étude Quantitative des polyphénols des extraits des graines de
deux plantes médicinales : Fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*) et
cubebe (*Piper cubeba*) et l'évaluation de l'activité biologique**

Soutenu le 12 juin 2024 devant le jury composé de :

Président	Mr CHIBANI Abdelwaheb	Pr Université A. Benbadis/ Mostaganem
Examinateur	Mr BOUZNAD Ahcen	Dr Université A. Benbadis/ Mostaganem
Encadreur	Mr MEKHALDI Abdelkader	Pr Université A. Benbadis/ Mostaganem
Co-encadreur	Mr HAMOUM Hakim	Dr Université A. Benbadis/ Mostaganem

Année Universitaire : 2023/2024



Remerciements

Nous débutons par exprimer notre gratitude envers Dieu, le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force et la persévérance nécessaires afin d'accomplir ce travail.

Nous remercions notre encadreur Mr MEKHALDI Abdelkader pour son encadrement, sa confiance, son soutien et sa disponibilité.

nous tenons à exprimer nos remerciements surtout à Mr HAMOUM Hakim pour avoir participé activement à la correction de ce manuscrit et ses précieux conseils qui nous ont permis à bien mener travail.

Nous remercions aussi Mr chibani Abdelwaheb pour sa disponibilité de présider notre jury.

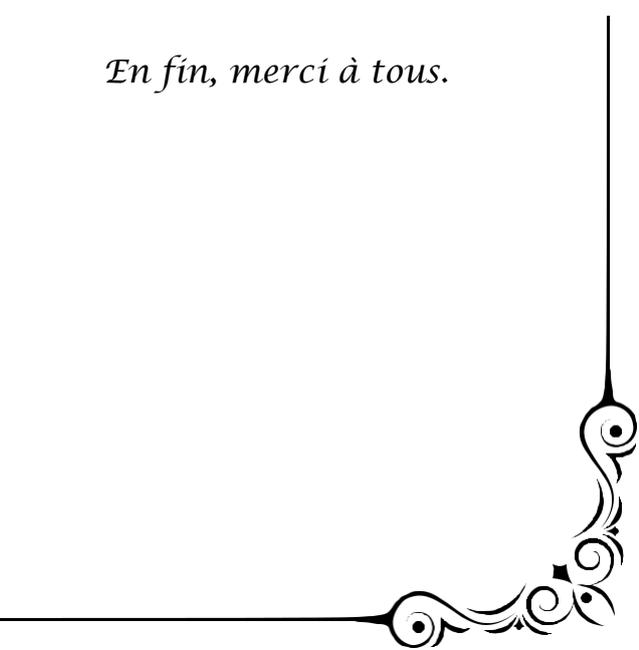
Nous adressons nos plus sincères remerciements à Mr BOUZNEB Ahcen pour l'honneur d'examiner notre travail.

Nous remercions aussi tout les techniciens de laboratoire de recherche scientifique pour leur patience, leur aide précieux et leurs valeureux conseils en particulier, Madame TAHLAITI Amina.

Nous tenons à exprimer nos remerciements sincères envers les individus qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Nos remerciements s'étendent également à nos amis, TOUMI Chahinaz et GUELLADRES Khayra, pour leur soutien moral.

En fin, merci à tous.



DEDICACES

*Je dédie ce travail à :
Une mère si rare, une mère en or, un trésor,
Noura Moulay Ali.
Qui s'est toujours soucié de mon
éducation, de mon soutien et de mon
bonheur.*

*À ma chère sœur, mes frères et amis
fidèles. Que Dieu leur accorde longue vie et
bonne santé. Pour toute ma famille*

ZOUINI Rania



DEDICACES

Au nom d'Allah clément et miséricordieux

Je dédie ce travail :

Aux deux êtres qui l'auraient espéré plus que moi :

Ma mère et mon père je ne peux jamais imaginer une vie sans eux.

Merci pour leur patience, pour leur soutien infini .

Je le dédie aussi :

A Mes cheres frères

A mes cheres sœurs

Je le dédie aussi à:

Mes cheres Amies

A toute ma Famill

sans oublier mon binôme : Rania



NEHARI Ikram



Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Résumé

المخلص

Abstract

Etude bibliographique

Chapitre I : Les Métabolites Secondaires

1.	Les éléments actifs des plantes.....	4
2.	Métabolisme	4
2.1.	Les métabolites primaires.....	4
2.2.	Les métabolites secondaires.....	4
2.2.1.	Les Terpénoïdes.....	5
2.2.1.1.	Les huiles essentielles.....	5
2.2.1.1.1.	Les différentes catégories des composés des huiles essentielles.....	5
2.2.1.1.2.	Modes d'extractions des huiles essentielles	6
2.2.1.1.3.	Les propriétés des huiles essentielles.....	8
2.2.2.	Les composés phénoliques.....	8
2.2.2.1.	La classification des composés phénoliques.....	9
2.2.2.2.	Modes d'extraction des composés phénoliques.....	11
2.2.2.3.	Propriétés des composés phénoliques.....	11
2.2.3.	Les alcaloïdes.....	12
3.	Les Antioxydants.....	12
3.1.	Définition du stress oxydant.....	12
3.2.	Radicaux Libres.....	13
3.3.	méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante.....	13
4.	Activité Antimicrobienne.....	14
4.1.	Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	14
4.1.1.	Méthode de l'aromatogramme.....	14
4.1.2.	Méthode de microatmosphères.....	15
4.1.3.	Méthode de dilution.....	15
4.1.3.1.	Méthode de dilution d'agar.....	15
4.1.3.2.	Méthode de dilution de bouillon.....	16
4.2.	Description des bactéries étudiées.....	16

Chapitre II : Présentation des plantes étudiées

1.	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.....	24
1.1.	Description botanique.....	24
1.2.	Classification botanique	25
1.3.	Noms vernaculaires de <i>Foeniculum vulgare</i>	26
1.4.	Composition biochimique.....	26
1.5.	Les huiles essentielles	26
1.6.	Utilisation.....	28
1.7.	Toxicité.....	28
2.	<i>Piper cubeba</i>	29
2.1.	Description botanique.....	29
2.2.	Classification botanique	30
2.3.	Noms vernaculaires de <i>Piper cubeba</i>	31

2.4.	Composition biochimique.....	31
2.5.	Les huiles essentielles	31
2.6.	Utilisation.....	32
2.7.	Toxicité.....	33
Partie expérimentale		
Chapitre III : Matériel et méthodes		
1.	Matériel végétal.....	36
2.	Détermination du taux d'humidité	36
3.	Préparation des échantillons pour l'extraction.....	36
4.	Extraction et des huiles essentielles et des composants phénoliques	37
5.	Dosage des composés phénoliques.....	38
5.1.	Dosage des Polyphénols	38
5.2.	Dosage des Flavonoïdes	39
6.	Activité antioxydante	39
6.1.	Test de DPPH.....	39
7.	Activité antimicrobienne.....	40
7.1.	Les souches bactériennes	40
7.2.	Diffusion en milieu solide	42
7.5.1.	Méthode de diffusion de disque	42
7.2.2.	Méthode de diffusion de puits d'agare.....	42
7.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et (CMB) ...	43
8.	Traitement Statistique	45
Chapitre IV : Résultats et Discussion		
1.	Le taux d'humidité	51
2.	Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation	51
3.	Rendement d'extraction des deux extraits	52
4.	Etude phytochimique de <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper.cubeba</i>	52
4.1.	Dosage des polyphénols.....	52
4.2.	Dosage des flavonoïdes	53
5.	Activité antioxydante	56
5.1.	l'activité antioxydante pour les huiles	56
5.2.	l'activité antioxydante pour les extraits	56
6.	Activité antibactérienne.....	57
6.1.	Sensibilité des bactéries à l'huile essentielle du fenouil etcubeba	57
6.2.	Sensibilité des bactéries à l'extrais aqueuse du fenouil et cubeba	60
6.3.	Détermination des CMI et CMB pour des huiles essentielles.....	64
6.4.	Détermination de CMI et CMB Pour les extraits	65
Conclusion et Perspectives		76
Références bibliographiques.....		79
Annexes		

Liste des tableaux

Tableau 1 : La classification taxonomique du <i>Foeniculum vulgare</i> Mill	25
Tableau 2 : Noms vernaculaires de <i>Foeniculum vulgare</i> Mille	26
Tableau 3 : Composition chimique des huiles essentielles de <i>Foeniculum vulgare</i>	26
Tableau 4 : La classification taxonomique du <i>Piper cubeba</i>	30
Tableau 5 : les noms vernaculaires de <i>Piper cubeba</i> dans différentes et	30
Tableau 6 : Constituants présents dans l'huile essentielle du fruit de <i>P. cubeba</i> déterminé par (GC-MS)	31
Tableau 7: Teneur en matière sèche des graines de <i>Foeniculum vulgare</i>	51
Tableau 8 : Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation	51
Tableau 9: Rendements en extraits bruts des plantes étudiées	52
Tableau 10 : Teneurs en polyphénole de les extraits <i>P.cubeba</i> et <i>F.vulgare</i>	53
Tableau 11 : Teneurs en flavonoïdes de les extraits <i>P.cubeba</i> et <i>F.vulgare</i>	54
Tableau 12 : le pouvoir antioxydant des huiles essentielles ainsi que de l'acide ascorbique	56
Tableau 13 : le pouvoir antioxydant des extraits ainsi que de l'acide ascorbique	56
Tableau 14 : Sensibilité des bactéries à l'huile essentielle du <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	59
Tableau 15: Activité antimicrobienne des huiles essentielles du <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	60
Tableau 16 : Sensibilité des bactéries à l'extrait du <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	62
Tableau 17 : Moyenne des extraits du <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	63
Tableau 18 : Les valeurs de CMI et CMB de l'huile essentielle extraite des graines de <i>foeniculum vulgare</i> et de <i>Piper cubeba</i>	65
Tableau 19 : Les analyses statistiques des CMI et CMB des huiles essentielles de <i>Foeniculum vulgare</i> et de <i>Piper cubeba</i> ont été réalisées	65
Tableau 20: Les valeurs de CMI et CMB de l'extraits de <i>foeniculum vulgare</i> et de <i>Piper cubeba</i>	66
Tableau 21 : Les analyses statistiques des CMI et CMB des extraits de <i>Foeniculum vulgare</i> et de <i>Piper cubeba</i> ont été réalisées	66

Liste des figures

Figure 1 : Structure chimique de l'isoprène, unité fonctionnelle des terpènes	5
Figure 2: Exemples des dérivés terpeniques	6
Figure 3: Structure Chimiques de quelques composés aromatiques	6
Figure 4: Appareil d'extraction des huiles essentielles type <i>Clevenger</i>	7
Figure 5: Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes	7
Figure 6: Structure de base d'un flavonoïde	9
Figure 7 : Structures chimiques des acides phénoliques	10
Figure 8 : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensé	11
Figure 10 : Photos représentatives des feuilles de <i>Foeniculum vulgare</i> (A), des fleurs (B) et des graines (C) .	25
Figure 11 : Photos représentatives des feuilles de <i>P. cubeba</i> (A), des fleurs (B) et des baies (C)	28
Figure 12 : Les graines de : 1- <i>Foeniculum vulgare</i> ; 2- <i>Piper cubeba</i>	36
Figure 13 : Dispositif d'hydrodistillation <i>Clevenger</i>	37
Figure 14 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant	40
Figure 15 : Coloration de Gram de huit souches étudiées	41
Figure 16 : Illustration de la méthode d'aromatogramme	42
Figure 17 : Méthode de diffusion en puits	43
Figure 18 : Schéma récapitulatif du protocole de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI	44
Figure 19 : Courbe d'étalonnage des polyphénols mg AGE/ μ g	53
Figure 20 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes mg EQ/ μ g	54
Figure 21 : Dosage de flavonoïdes et polyphénol des plantes (<i>P.cubeba</i> et <i>F.vulgare</i>)	55
Figure 22: Effets d'huiles essentielles de <i>foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i> sur huit souches bactériennes	58
Figure 23: Sensibilité des bactéries aux huiles essentielles du <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	59
Figure 24 : Contrôle négatif du DMSO pour les extraits	61
Figure 25 : Effet des extraits de <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i> sur huit souches bactériennes à trois concentrations (50,100,150)	61
Figure 26 : Sensibilité des bactéries aux extraits de trois concentrations (50,100,150) de <i>Foeniculum vulgare</i> et <i>Piper cubeba</i>	64

Liste des abréviations

µg : microgramme
ABTS : 2,2-Azinobis-3-ethyl BenzoThiazoline-6-Sulphonate
ADN : Acide Désoxyribo Nucléique
AlCl₃ : TriChlorure d'Aluminium
ANOVA: ANalyse Of VAriance
ARN: Acide Ribonucléique
BHT : Butylated Hydroxy Toluene
CCl₄ : Tétrachlorure de Carbone
CL₅₀ : Concentration Létale à 50%
CMB : Concentration Minimale Bactéricide
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse
DL₅₀ : Dose Létale à 50 %
DMPD : DiMethyl Phenylene Diamine
DMSO : DiMéthyl SulfOxyde
DPPH : 2,2-DiPhenyl-1-PicrylHydrazine
EAG : Equivalent d'Acide Gallique
EQ : Equivalent Quercétine
ES : Extrait Sec.
Ex : Extrait
FRAP : Fluorescence Recovery After Photobleaching
GC-MS : Gas Chromatography- Mass Spectrométrie
GRAS : Generally Recognized As Safe
HE : Huile Essentielle
IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50 %
M% : Pourcentage de la Mortalité
mg : milligramme
MH : Muller Hinton
MHB : Mueller Hinton Bouillon
MTT : Methyl Thiazoldiphenyl Tetrazolium
Na₂SO₄ : Sodium Sulfate
PAM : Plante Aromatique Médicinale
RHE : Rendement en Huiles Essentielles
RO₂ : Peroxyle
ROS : Reactive Oxygen Species
TBA : Thio Barbiturique Acide
TTC : Triphényl Tetrazolium Chloride

Résumé :

Les plantes médicinales ont été utilisées depuis des millénaires pour leurs propriétés thérapeutiques, et la recherche moderne continue d'explorer leurs potentialités pour développer de nouveaux traitements. Les huiles essentielles et les extraits de plantes constituent une source précieuse de composés bioactifs aux propriétés antioxydantes et antibactériennes.

L'objectif de notre travail était d'étudier l'activité biologique et biochimique des huiles essentielles et des extraits des graines des plantes de fenouil (*Foeniculum vulgare Mill*) et de cubebe (*Piper cubeba*). Pour l'extraction des huiles essentielles, nous avons utilisé la distillation à la vapeur, tandis que les extraits ont été obtenus en faisant macérer la poudre de la plante dans de l'eau distillée pendant 24 heures. Les rendements en huiles étaient de 1,02 % pour le fenouil et de 0,97% pour le cubebe, tandis que les rendements en extraits étaient de 9,8 % pour le fenouil et de 8,7 % pour le cubebe.

Les teneurs en polyphénol totaux (par la méthode de Folin-Ciocalteu) étaient de 80 mg EQAG/g pour le Cubèbe et de 12 mg EQAG/g pour le Fenouil. L'estimation quantitative des flavonoïdes (par la méthode au trichlorure d'aluminium) étaient similaires entre les deux plantes, avec 165 mg/g EQ pour le cubèbe et 185 mg/g EQ pour le fenouil.

L'activité antioxydante des différents extraits (l'extrait aqueux et huiles essentielles) a été évaluée par la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Les valeurs IC₅₀ des huiles étaient de 45 mg/ml pour le *Fenouil* et de 0,029 mg/ml pour le *Cubèbe*, tandis que pour les extraits, elles étaient de 7,4 mg/ml pour le *Fenouil* et de 0,3 mg/ml pour le cubèbe.

En ce qui concerne l'activité antibactérienne des HEs, les tests de diffusion sur disque ont montré que les huiles de graines de *Fenouil* et de *Cubeba* inhibaient la croissance de sept types de bactéries et de levures, avec une efficacité particulière de l'huile de cubebe contre *C. albicans*, *E. coli* et *P. mirabilis*. L'huile de fenouil a montré une inhibition plus forte contre *Bacillus cereus*. Les huiles ont également démontré une activité bactéricide avec des concentrations allant de 0,02 % à 1,25 % pour le *Cubebe* et de 1,25 % à 5 % pour le *Fenouil*.

Les extraits ont également montré une activité antibactérienne notable en utilisant la méthode de diffusion en puits, avec une efficacité supérieure du cubebe contre *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, tandis que le fenouil était plus efficace contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*. Les extraits ont démontré une activité bactériostatique avec des concentrations efficaces allant de 0,37 mg/ml à 6,25 mg/ml pour les deux plantes.

Mots clés : Huile essentielle ; Activité antibactérienne ; Activité antioxydante ; flavonoïde ; polyphénol ; *Piper cubeba* ; *Foeniculum vulgare Mill*

ملخص :

استُخدمت النباتات الطبية منذ آلاف السنين لخصائصها العلاجية، وتواصل الأبحاث الحديثة استكشاف إمكاناتها لتطوير علاجات جديدة. وتُعد الزيوت العطرية والمستخلصات النباتية مصدراً مهماً للمركبات النشطة بيولوجياً ذات الخصائص المضادة للأكسدة والبكتيريا.

يهدف عملنا هذا إلى دراسة النشاط البيولوجي والكيميائي الحيوي للزيوت الأساسية ومستخلصات البذور لكل من نباتي: البسباس (*Foeniculum vulgare Mill*) والكبابية (*Piper cubeba*).

استُخدم التقطير بالبخار لاستخلاص الزيوت الأساسية، في حين تم الحصول على المستخلصات عن طريق نقع مسحوق النبات في الماء المقطر لمدة 24 ساعة.

وبلغت نسبة المردودية للزيوت الأساسية 1.02% بالنسبة لعينة بذور البسباس و0.97% لعينة بذور الكبابية، بينما بلغت نسبة عائد المستخلص المائي 9.8% للبسباس و8.7% للكبابية.

أوضحت نتائج التقدير الكمي للمركبات الفينولية المتعددة الكلية والتي تم استخلاصها باستعمال طريقة (Folin-Ciocalteu) أن مستويات هذه المركبات قد بلغت 80 ملغم/جرام مكافئ لحمض الجاليك (80 mg EQAG/g) لدى عينة بذور البسباس و 12 ملغم/جرام مكافئ لحمض الجاليك (12 mg EQAG/g) بالنسبة لبذور الكبابية بينما تميزت عيني بذور النباتين بغناها بمكونات الفلافونيد المستخلصة بطريقة ثلاثي كلوريد الأليمنيوم (AlCl₃) حيث وصلت في عينة بذور الكبابية إلى 165 ملغم/مكروغرام مكافئ لحمض الجاليك يقابل ذلك 185 ملغم/مكروغرام مكافئ في حالة بذور البسباس

تم تقييم النشاط المضاد للتأكسد لمختلف المستخلصات (المستخلص المائي و الزيوت الأساسية) بواسطة طريقة النشاط الإزاحي اتجاه جذر DPPH ، وقد أوضحت نتائج النشاط المضاد للتأكسد أن مستخلص الزيوت الأساسية والمستخلص المائي لبذور الكبابية كانا أكثر فعالية من مستخلصات عينة بذور البسباس حيث كانت قيم التركيز الفعال لنصف العينة IC₅₀ لمستخلص الزيوت في كليهما على التوالي : 0.029 مجم/مل للكبابية ، 45 مجم/مل للبسباس وللمستخلص المائي : 0.3 مجم/مل بالنسبة للكبابية يقابله 7.4 مجم/مل بالنسبة للبسباس

فيما يتعلق بنشاط الزيوت الأساسية المضاد للبكتيريا ، أظهرت اختبارات الانتشار عبر الأقراص أن زيوت بذور البسباس وزيت بذور الكبابية لها تأثيرات مثبتة للنمو بالنسبة للسلاسل البكتيرية المختبرة حيث كان زيت الكبابية فعالاً بشكل خاص ضد : *E. coli* ، *C. albicans* ، *P. mirabilis* وأظهر زيت البسباس تثبيطاً أقوى ضد بكتيريا *Bacillus cereus* وذلك بالنسبة لتركيزات الزيوت التي تتراوح ما بين 0.02% إلى 1.25% لزيت الكبابية ومن 1.25% إلى 5% لزيت البسباس.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ؛ نشاط مضاد للبكتيريا ؛ نشاط مضاد للأكسدة ؛ فلافونويد ؛ بوليفينول ؛ نبات البسباس ؛ نبات الكبابية

Abstract :

Medicinal plants have been used for thousands of years for their therapeutic properties, and modern research continues to explore their potential to develop new treatments. Essential oils and plant extracts are a valuable source of bioactive compounds with antioxidant and antibacterial properties.

The aim of our work was to study the biological and biochemical activity of essential oils and seed extracts from fennel (*Foeniculum vulgare* Mill) and cubeba (*Piper cubeba*) plants. Steam distillation was used to extract the essential oils, while the extracts were obtained by macerating the plant powder in distilled water for 24 hours. Oil yields were 1.02% for Fennel and 0.97% for Cubeb, while extract yields were 9.8% for Fennel and 8.7% for Cubeb.

Total polyphenol levels (using the Folin-Ciocalteu method) were 80 mg EQAG/g for Cubeb and 12 mg EQAG/g for Fennel. Quantitative estimates of flavonoids (using the aluminium trichloride method) were similar between the two plants, with 165 mg/g EQ for Cubeb and 185 mg/g EQ for Fennel.

The antioxidant activity of the various extracts (aqueous extract and essential oils) was assessed using the DPPH free radical scavenging method. The IC₅₀ values for the oils were 45 mg/ml for Fennel and 0.029 mg/ml for Cubeb, while for the extracts they were 7.4 mg/ml for Fennel and 0.3 mg/ml for Cubeb.

With regard to the antibacterial activity of EOs, disc diffusion tests showed that Fennel and Cubeba seed oils inhibited the growth of seven types of bacteria and yeasts, with Cubeba oil being particularly effective against *C. albicans*, *E. coli* and *P. mirabilis*. Fennel oil showed stronger inhibition against *Bacillus cereus*. The oils also demonstrated bactericidal activity with concentrations ranging from 0.02% to 1.25% for Cubebe and from 1.25% to 5% for Fennel.

The extracts also showed significant antibacterial activity using the well diffusion method, with cubeb being more effective against *P. aeruginosa* , *P. mirabilis* , while fennel was more effective against *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*. The extracts demonstrated bacteriostatic activity with effective concentrations ranging from 0.37 mg/ml to 6.25 mg/ml for both plants.

Keywords: essential oil; antibacterial activity; antioxidant activity; flavonoid; polyphenol , *Piper cubeba* ; *Foeniculum vulgare* Mill

Introduction

Introduction

La plante est un organisme vivant qui existe depuis l'antiquité. Elle constitue un maillon très important et fondamental dans le cycle biologique de vie des autres organismes vivants tel que les animaux aussi bien les êtres humains (**Madi, 2011**). En effet, il existe environ 500.000 espèces de plantes sur terre, dont 80.000 possèdent des propriétés médicinales (**Benkhniq, 2010**).

Depuis l'origine de l'humanité les plantes et toutes les matières naturelles ont été les seuls remèdes dont disposait être humain pour soigner ses maladies. Une thérapie basée sur le savoir empirique, ancestrale, sur l'usage traditionnel transmis oralement au cours des siècles. La thérapie par les plantes et leurs extraits reste prépondérante jusqu'à 1930. Les chimistes du XIX^e siècle firent de la phytothérapie un pas géant par les découvertes des véritables principes actifs. Depuis quatre-vingt ans, les progrès de la chimie d'extraction puis, la chimie de synthèse permettent d'obtenir les principes actifs à état pur (**Amar, 2009**).

Les plantes médicinales sont une source incontournable et inépuisable de composés biologiquement actifs. L'atout principal des PAM (Plante Aromatique et Médicinale) consiste dans le fait qu'elles sont utilisées notamment pour le traitement de diverses pathologies, que ce soit sous forme directe (infusions ou macérations) ou indirecte (extraction d'actifs) et généralement en parfumerie, en cosmétique et pour l'aromatisation culinaire. Cette polyvalence est à l'origine de la tendance actuelle visant à leur valorisation économique. L'effort de recherche porte sur la caractérisation chimique et biologique de métabolites secondaires contenus dans des extraits aux solvants ou des huiles essentielles qui seront, demain, les agents actifs susceptibles de faire aboutir un nouveau médicament (**Medbouhi, 2018**).

Une grande partie de l'intérêt des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antioxydants naturelles qui agissent comme capteurs de radicaux libres. Les capteurs de radicaux libres ont pour rôle de stopper ce processus en neutralisant ces composés très réactifs, pour réduire leur nocivité (**Boyd et al., 2003**).

Plusieurs études ont porté aussi sur l'activité antimicrobienne des métabolites secondaires, principalement celle des huiles essentielles, qui de part de leur composition chimique peuvent entraîner des dommages considérable sur les souches microbiennes (**Bounatirou et al., 2007**).

Ce présent document s'organise autour de quatre chapitres.

Le premier chapitre se concentre sur les métabolites secondaires, soulignant leur importance biologique. Le deuxième présente les plantes étudiées, en détaillant leurs caractéristiques. Le troisième expose le matériel et les méthodes utilisés. Le quatrième chapitre analyse les résultats obtenus.

Pour compléter les recherches scientifiques existantes, nous avons étudié les activités biologiques des deux plantes *Piper cubeba* et *Foeniculum vulgare*. À partir de cette analyse, nous cherchons à répondre aux questions suivantes : les deux plantes ont-elles un effet significatif sur les propriétés biologiques et biochimiques ? Si oui, laquelle des deux est la plus active et comment expliquer cette activité accrue?

Etude Bibliographique

Chapitre I :

Les métabolites secondaires

1. Les éléments actifs des plantes

Le ou les principes actifs d'une plante médicinale sont les composants naturellement présents dans cette plante ; ils lui confèrent son activité thérapeutique (Aouadhi, 2010). Ces composants sont souvent en très petites quantités dans la plante : ils ne représentent qu'un faible pourcentage du poids total de la plante. Les ingrédients actifs se trouvent dans toutes les parties de la plante, mais de manière inégale. Et tous les composants actifs d'une même plante n'ont pas les mêmes propriétés (Mouzaoui et Tamindjoute, 2012).

Principes actifs des plantes La notion de principe actif dans les plantes n'apparaît qu'au début du XIX^{ème} siècle avec l'isolement de la morphine à partir de l'opium par l'allemand Friedrich Sertürner. Ce dernier publie en 1817 un article sur les propriétés pharmacologiques de la morphine (Wardencki *et al.*, 2007)

2. Métabolisme

Le métabolisme c'est l'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme, est un processus très dynamique. Les molécules sont en continuel renouvellement ; la composition d'une cellule à un instant donné est un équilibre entre synthèse et dégradation (Hopkins, 2003). Le métabolisme est soumis à une régulation équilibrée évitant toute accumulation des produits finaux ou intermédiaires (Marouf et Reynaud, 2007).

2.1. Les métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. (Donatien, 2009). Ce sont des molécules constitutives ou permanentes : directement impliqué dans les principales voies du métabolisme basal de la cellule, c'est-à-dire indispensables à la survie cellulaire. (Elkolli, 2017). Ils sont classés en quatre grandes catégories :

Les glucides, source d'énergie.

Les lipides, source d'énergie, membranes cellulaires.

Les acides aminés, source primaire de construction des protéines.

Les acides nucléiques.

2.2. Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante. Ils y jouent différents rôles, dont celui de moyen de défense contre les agressions externes. Cependant, ils ne sont pas toujours nécessaires à la survie de la plante. (Donatien, 2009). Ils sont souvent synthétisés dans une partie de la plante et stockés dans une autre (Thi Dao, 2008). Ces composés ne sont pas produits directement lors de la photosynthèse, mais résultent de réactions chimiques ultérieures. (Aiche, 2016).

2.2.1. Les Terpénoïdes

Elaborés à partir des mêmes précurseurs, les terpénoïdes et des stéroïdes constituent sans doute le plus vaste ensemble connu de métabolites secondaires des végétaux (**Bruneton, 1999**). Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (figure 1). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cycliques, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes (**Hopkins, 2003**).

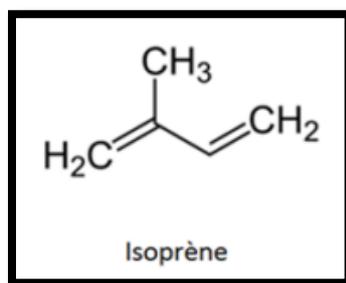


Figure 1 : Structure chimique de l'isoprène, unité fonctionnelle des terpènes (**Cécile, 2015**).

2.2.1.1. Les huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils produits par des organismes vivants et sont isolées souvent par des méthodes physiques (pression et distillation) (**Franz et Novak, 2010**). Elles sont stockées dans des cellules spéciales (glandes, poils) et peuvent être contenues dans n'importe quelle partie d'une plante (**Pengelly, 2004**). Etant extraits par distillation, les composants des huiles essentielles doivent être volatils, de poids moléculaire inférieur à 300 Daltons et légèrement hydrophobes (**Sell, 2010**).

2.2.1.1.1. Les différentes catégories des composés des huiles essentielles

L'ensemble de ces composés peut être divisé en deux grands groupes; les hydrocarbures terpéniques (monoterpènes, sesquiterpènes et rarement diterpènes) et les composés oxygénés, qui sont considérés comme substances aromatiques, de type phénylpropanoïde (**Besombes, 2008**). Il existe naturellement d'autres corps qui peuvent entrer en faibles proportions dans la constitution de certaines huiles essentielles : acides organiques, cétones de faible poids moléculaire, coumarines volatiles, flavonoïdes, etc (**Bernard et al., 1988**).

A. Les terpènes

Sont rencontrés principalement les terpènes (figure 2) les plus volatils : des monoterpènes et des sesquiterpènes. Plusieurs milliers de composés ont été décrits et sont classés selon leur nombre de cycles et selon la nature des fonctions qu'ils portent (alcool, aldéhyde, cétone, ester, éther-oxyde...) (**Ghestem et al., 2001**).

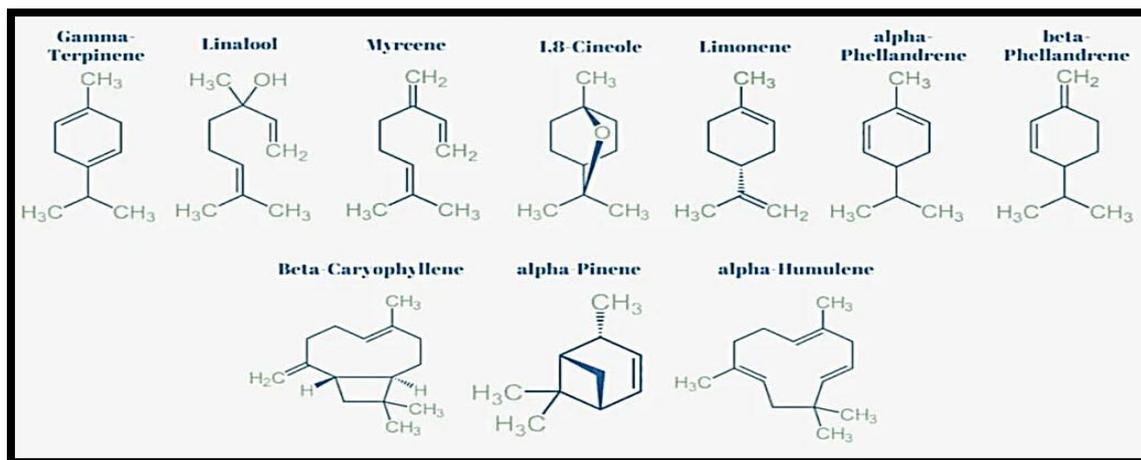


Figure 2 : Exemples des dérivés terpeniques (Cécile, 2015)

B. Les composés aromatiques

Ces composés sont beaucoup moins fréquents (figure 3). Ils sont classés selon la nature des fonctions qu'ils portent : acide, ester, aldéhyde, phénol, éther phénolique...) (figure 3) (Ghestem *et al.*, 2001).

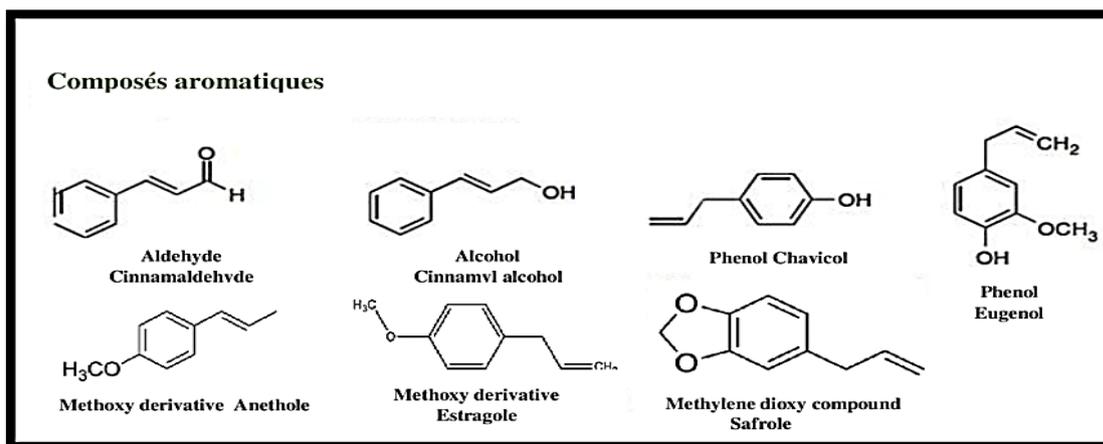


Figure 3: Structure Chimiques de quelques composés aromatiques (Goudjil ,2016)

2.2.1.1.2. Modes d'extractiones des huilles essentielles

A. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche. Le phénomène physique est identique à celui décrit précédemment. Cependant une verrerie adaptée a été mis en place permettant à la fois la circulation en circuit quasi-fermé de l'eau sous forme aqueuse et gazeuse et la cohobation de l'huile essentielle. Ces phénomènes ont été rendus possibles à l'échelle du laboratoire grâce à l'utilisation d'un appareillage de type *Clevenger* (figure 4) (sylvain , 2010).

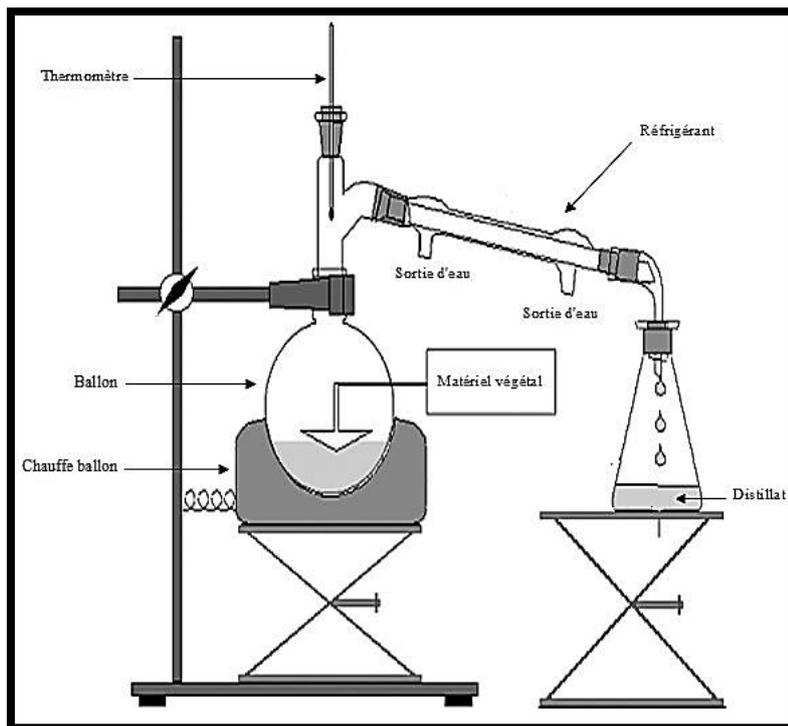


Figure 4: Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger (Zeraib, 2010).

B. Extraction assistée par micro-ondes

En 1986, Ganzler *et al.* furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique (figure 5). Cette technique permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie par rapport à une méthode conventionnelle. En 1990, Paré *et al.* ont déposé un premier brevet européen, sur « l'extraction de produits naturels assistée par micro-ondes ». Les micro-ondes sont utilisées pour accélérer le processus d'extraction en agitant les molécules dans la plante. Cela permet d'obtenir des extraits en moins de temps et avec moins de solvant (Sylvain, 2010). Depuis différentes techniques d'extraction par micro-ondes ont été développées et de nombreux brevets ont été déposés

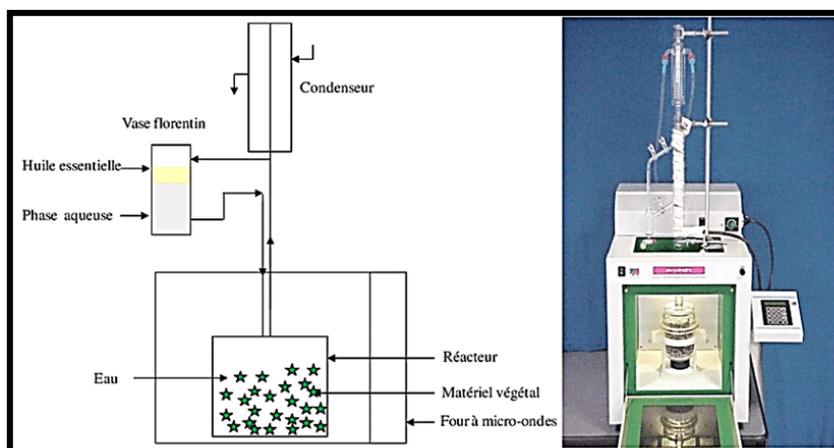


Figure 5 : Schéma d'extraction par solvant assistée par micro-ondes (Farhat , 2010)

C. L'espace de tête

Permet l'analyse des constituants volatils en établissant un équilibre thermodynamique entre l'échantillon solide et la vapeur. Le végétal, enfermé dans un pilulier étanche, est placé dans une étuve thermostatée chauffée à une température prédéterminée. Un équilibre thermodynamique entre l'échantillon solide et la couche de vapeur s'établit dans le pilulier. La phase gazeuse est ensuite transférée dans une colonne CPG pour que les constituants soient individualisés. Cette technique permet d'étudier uniquement les composés volatils tandis que les substances non volatiles restent dans le pilulier. (Sylvain, 2010).

2.2.1.1.3. Les propriétés des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été largement utilisées pour leurs propriétés antibactériennes, Exemple : **Behbahani et al. (2013)** ont révélé l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de deux espèces de Thym (*Thymus daenensis* et *Thymus vulgaris*) contre trois bactéries (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*), une levure (*Candida albicans*) et un champignon (*Aspergillus niger*) antifongique et insecticide. Leurs utilisations pharmaceutique et alimentaire sont de plus en plus appréciées comme des alternatives des produits chimiques de synthèse, afin de protéger l'équilibre écologique (**Bakkali et al., 2008**).

Autre étude **Safaei-Ghomi et al. (2009)** ont révélé l'action antioxydante des huiles essentielles de *Thymus caramanicus* et ceci en employant deux test d'activité. Un autre exemple est l'activité antiparasitaire observé par **Melo et al. (2013)**, contre la leishmaniose et ceci en employant les huiles essentielles de *Lippia gracilis*. Ainsi, l'activité anticancéreuse des huiles essentielles de *Cupressus sempervirens* a été mise en évidence par **Fayed (2015)**. Une activité anti-inflammatoire, avec une inhibition des enzymes clés intervenant dans la maladie d'Alzheimer (l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase), ont été attribuées aux huiles essentielles d'*Origanum ehrenbergii* Boiss et *Origanum syriacum* L. par **Loizzo et al. (2009)**.

2.2.2. Les composés phénoliques

Le terme «composé phénoliques» comprend plusieurs milliers de molécules qui répondent difficilement à une définition simple de point de vue chimique, il est déterminé par un cycle benzénique porteur d'au moins un groupe hydroxyle libre ou impliqué dans une autre fonction (éther, ester...) (**Wichtl et Anton, 2003**).

La plupart de ces composés ont une solubilité variable, en fonction de leur degré de polarité et de leur structure, tels que le degré d'hydroxyle, de glycosylation ou d'acylation. (**Martin et Andriantsitohaina, 2002**).

Les composés phénoliques des végétaux sont biosynthétisés par trois voies différentes (**Thayumanavan et Sadasivam, 2003**) : voie Shikimique, voie Acétate-Malonate ou voie des polycétides et voie acétate Mevalonate.

2.2.2.1. La classification des composés phénoliques

Le terme de phénols couvre un groupe large et diversifié de composés chimiques, qui peuvent être classés selon plusieurs critères. Sont :

A. Les phénols simples

Les phénols simples consistent en un cycle aromatique dans lequel un hydrogène est remplacé par un groupe hydroxyle. Leur distribution est répandue dans toutes les classes de plantes (**pangly 2014**) .

B. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les représentants les plus nombreux dans la famille des polyphénols (plus de 5 000 molécules isolées). Ce sont des pigments végétaux jaune orangé (leur nom venant du mot latin flavus : jaune) (**Bruneton, 2009**) . Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6), ils contiennent quinze atomes de carbone dans leur structure de base (figure 6) : deux cycles aromatiques A et B à six atomes de carbones liés avec une unité de trois atomes de carbone qui peut ou non être une partie d'un troisième cycle C (**Boubekri ,2014**)

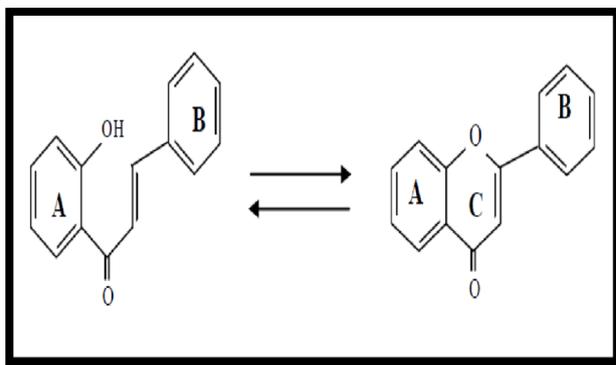


Figure 6: Structure de base d'un flavonoïde (**Heller et Forkmann, 1993**).

C. Les acides phénoliques :

Les acides phénoliques (figure 7) font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques (**Boubekri, 2014**). Le terme d'acide – phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et hydroxyle phénolique (**Bruneton, 1999**).

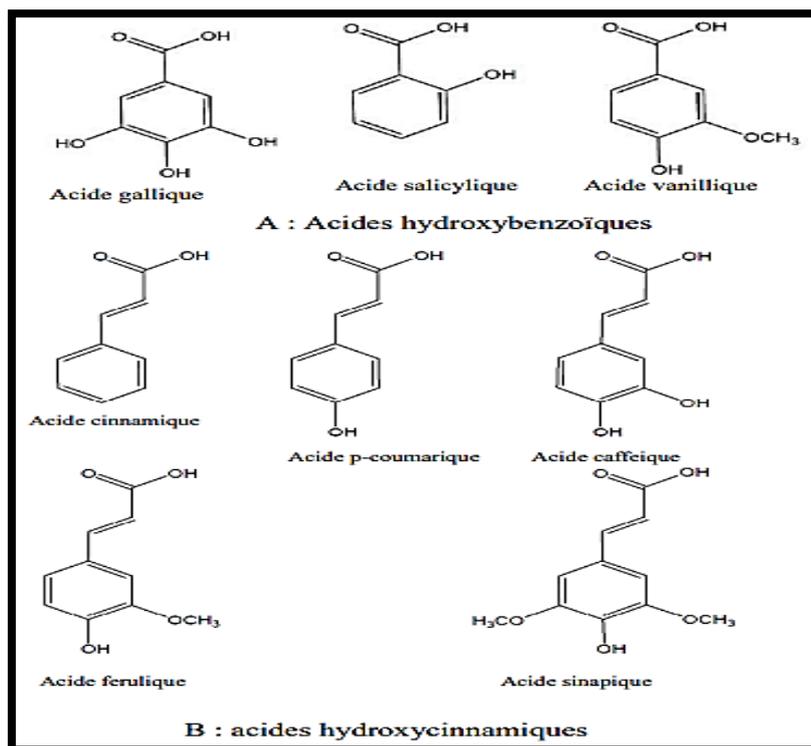


Figure 7 : Structures chimiques des acides phénoliques (Benabed, 2018) .

- **Les formes condensées :**

Ces formes résultent de la condensation de certaines des formes simples, selon la nature de ces formes simples ainsi que le type de condensation, on obtient des formes plus ou moins complexes qui sont particulièrement difficiles à étudier car elles nécessitent une dégradation chimique ou enzymatique afin de pouvoir les analyser. Parmi les formes condensées on peut distinguer les tannins et les lignines (Macheix, 2005).

D. Les tannins :

Les tanins sont des composés de masse moléculaire élevée (500-5000) contenant suffisamment de groupes hydroxyle phénoliques pour permettre la formation de réticulations stables avec des protéines et, par conséquent, les précipiter. Presque tous les tanins sont classés comme des tanins hydrolysables ou des tanins condensés (figure 8), certaines plantes contiennent les deux types (Pengelly, 2004 ; Macheix, 2005).

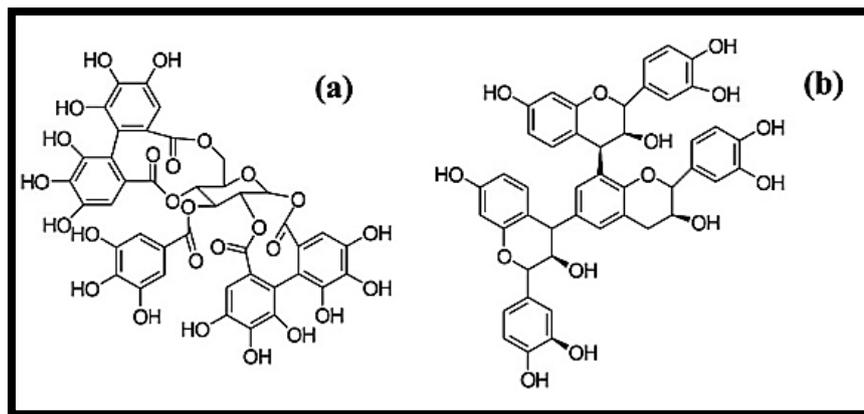


Figure 8 : Structure chimique des tanins (a) hydrolysables (b) condensé (Bothi *et al.*, 2014)

E. Les lignines :

Ce sont des polymères phénoliques, ils jouent un rôle important en fournissant le soutien structurel aux plantes. C'est le deuxième polymère le plus abondant dans la nature, après la cellulose (Macheix, 2005).

2.2.2.2. Modes d'extraction des composés phénoliques

D. Extraction par solvants

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent également être obtenus par l'extraction liquide-liquide avec des solvants organiques (éthanol, pentane, hexane, acétate d'éthyle, dichlorométhane, oxyde de diéthyle, etc...).

L'extraction permet non-seulement la récupération des composés présents dans les huiles essentielles mais également celle de composés «lourds» qui présentent un intérêt spécifique en fonction de leur structure moléculaire (flavonoïdes, triterpènes etc.). L'industrie cosmétique et agro-alimentaire différencie les extraits selon le type de solvant utilisée, le type de matière première, etc... (Bruneton, 1993)

2.2.2.3. Propriétés des composés phénoliques

Les composés phénoliques possèdent des activités biologiques importantes qui peuvent être liées directement à leurs structures chimiques. La santé humaine est également intimement liée à cette classe de composés, car de nombreux composés médicinaux sont dérivés ou inspirés par les phénols des plantes. Les exemples incluent la podophyllotoxine de lignane de la pomme de mai (*Podophyllum peltatum*), qui va former le téniposide, l'étoposide et l'étophos, utilisés pour traiter un certain nombre de cancers. La curcumine diarylheptanoïde de *Curcuma* (l'épice de curry), qui a de puissantes propriétés anti-inflammatoires et est utilisé dans le monde entier pour traiter l'arthrite et d'autres maladies inflammatoires (Kutchan *et al.*, 2015). Un nombre important de recherches ont démontré les propriétés antimicrobiennes des extraits phénoliques, citant entre

autres l'étude réalisée par **Benbelaïd et al. (2013)** qui s'ont intéressés par les effets antimicrobiens des composés phénoliques extraits à partir de l'espèce endémique *Thymus lanceolatus* Desf., ces derniers ont montré une inhibition de croissance contre les différentes souches testées (21 souches dont 19 bactéries et deux champignons).

Les composés phénoliques sont caractérisés par des propriétés antioxydantes importantes. Ils peuvent agir en tant qu'agents réducteurs, donneurs d'hydrogène, chélateurs de métaux et piègeurs d'oxygène singulet (**Sarma, 2011**). Plusieurs études sont intéressées par l'activité antioxydante des composés phénoliques, à titre d'exemples on peut citer : **Delgado et al. (2014)**, ont étudié les extraits phénoliques de 20 populations de *Thymus mastichina* L. Cette étude a montré une activité antioxydante importante de ces extraits. Une étude menée par **Hyun et al. (2014)**, ont exploré les effets antidiabétiques des extraits phénoliques de *Thymus quinquecostatus* Celak, et ceci en étudiant leur pouvoir d'inhiber les enzymes α -glucosidase et α -amylase.

2.2.3. Les alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont parmi les ingrédients actifs les plus importants en pharmacologie et en médecine (**Adouane, 2016**). Ce sont des produits azotés basiques, origine naturelle avec une structure complexe dont l'atome azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative (**Krief, 2003**). Les alcaloïdes sont utilisés comme médicaments anticancéreux, sédatifs et pour leur effet sur les troubles neurologiques (maladie de Parkinson) (**Adouane, 2016**).

3. Les Antioxydants

Le terme «antioxydant» a été formulé comme « une substance qui en faibles concentrations, en présence du substrat oxydable, ralentit ou empêche significativement l'oxydation des substrats matériels ». **Vansant (2004)** définit les antioxydants comme substances capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme et permettent de maintenir au niveau de la cellule des concentrations non cytotoxiques de ROS. Les antioxydants sont des systèmes enzymatiques ou non-enzymatiques, endogènes ou exogènes (**Mahmoudi, 2013**).

3.1. Le stress oxydant

Dans les circonstances quotidiennes normales, des radicaux libres sont produits en permanence et en faible quantité et cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense, d'ailleurs adaptatifs par rapport au niveau de radicaux présents.

Dans ces circonstances normales, on dit que la balance antioxydants/pro-oxydants est en équilibre. S'il n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydants ou par suite d'une surproduction énorme de radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé stress oxydant (**Favier, 2003**).

3.2. Radicaux Libres

Un radical libre est défini comme toute espèce qui contient un ou plusieurs électrons non appariés. Les espèces réactives d'oxygène (ERO) sont des termes collectifs qui comprennent les radicaux oxygène tels que le superoxyde (OH^-), l'hydroxyle ($\text{OH}\cdot$), le peroxyde ($\text{RO}_2\cdot$) et des radicaux hydroperoxyde ($\text{HO}_2\cdot$), et certains agents oxydants non radicaux tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'acide hypochloreux (HOCl) et l'ozone (O_3), qui peuvent être facilement transformés en radicaux. Cependant, les espèces réactives d'oxygène sont également produites au cours du métabolisme normal et sont impliquées dans les réactions enzymatiques, le transport d'électrons mitochondrial, la transduction du signal, l'activation des facteurs de transcription nucléaires, l'expression des gènes et l'action antimicrobienne des neutrophiles et des macrophages (**Bayir, 2005**).

Comme il existe aussi des sources exogènes de ces espèces, tel que l'exposition au rayonnement, le tabagisme, les polluants et les pesticides, les solvants organiques, les anesthésies. Certains de ces composés ainsi que quelques médicaments peuvent se transformer en produits intermédiaires de radicaux libres qui vont endommager les tissus cibles (**Machlin et Bendich, 1987**).

3.3. Les méthodes d'évaluation de l'activité antioxydante

Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante des substances naturelles, ces méthodes reposent essentiellement sur deux principes :

Le premier est associé avec la peroxydation lipidique, comme les tests de l'acide thiobarbiturique (TBA), du β -carotène et des diènes conjugués, le deuxième repose sur le transfert d'électrons ou de protons pour la neutralisation des radicaux ou de certains métaux, c'est le cas des tests : DPPH, ABTS, FRAP... (**Shibamoto, 2014**).

Les méthodes les plus couramment utilisées sont celles de la réduction du 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), de l'inhibition de la peroxydation de l'acide linoléique, de la chélation des métaux et de blanchissement du β -carotène dans l'acide linoléique. La mesure de l'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique est une méthode efficace pour l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles. Cette activité est déterminée par le pourcentage d'inhibition de la peroxydation d'acide linoléique (**Hussain et al., 2008**).

La méthode de chélation des métaux est employée pour déterminer la puissance de réduction des huiles essentielles. Ces derniers ramènent le complexe de Fe^{3+} /ferricyanide [$FeCl_3/K_3 Fe (CN)_6$] à la forme (Fe^{2+}) ferreuse (Oyaizu, 1986).

Par conséquent, selon la puissance de réduction des substances testées, la couleur jaune de la solution d'essai change en vert ou en bleu (Nikhat *et al.*, 2009).

L'efficacité d'un antioxydant présent dans l'aliment peut être testée par la mesure de son pouvoir à piéger les radicaux libres. On rencontre dans la littérature, au moins une variante du test de piégeage pour chaque espèce réactive de l'oxygène (ERO) ainsi que les autres radicaux stables utilisés tels que le DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, l'ABTS : 2,2-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonate) et le DMPD : N, N, -diméthyl-p phénylenediamine.

Afin de choisir la bonne méthode, il faut savoir ce que l'on va mesurer et évaluer. Le blanchiment du β -carotène dans l'acide linoléique et de la réduction de DPPH sont des méthodes efficaces, simples, reproductibles et rapides pour évaluer les propriétés antioxydantes des huiles. (Ragnarsson *et al.*, 1977; Namiki, 1990; Frankel, 1996).

4. Activité Antimicrobienne

Les effets antimicrobiens de différentes espèces d'herbes et d'épices sont connus depuis longtemps et mis à profit pour augmenter la durée de vie des aliments. Ainsi, les huiles essentielles, actuellement employés comme arômes alimentaires sont également connus pour posséder des activités antimicrobiennes et pourraient donc servir d'agents de conservationalimentaires, et ce d'autant plus qu'ils sont pour la plupart classés "généralement reconnus comme sains" (Generally Recognized As Safe GRAS), ou approuvés comme additifs alimentaires par la Food and Drug Administration. Ils n'ont, par conséquent, pas besoin d'autorisation d'emploi dans les aliments ; cependant, des études préalables sont nécessaires afin de mieux cerner leur activité antimicrobienne. Cette activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (Sipailiene *et al.*, 2006).

4.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

4.1.1. Méthode de l'aromatogramme

En plus de l'appellation méthode de l'aromatogramme (Abdesselam, 2006), elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme (Jacob, 1979), méthode de VINCENT (Pibiri, 2006), méthode de diffusion dans la gélose (agar) (Razakarivony *et al.*, 2009). Elle est particulièrement adaptée à l'étude de l'action antibactérienne. Elle permet de déterminer la sensibilité des différentes espèces bactériennes vis à vis de l'huile essentielle donnée. Elle peut être aussi adaptée pour tester d'autres agents antimicrobiens (Wilkinson, 2006).

Une autre technique de diffusion sans disque, elle consiste en l'aménagement d'une cavité dans la gélose. Cette cavité est ensuite remplie d'un volume donné d'huile essentielle qui va diffuser dans la gélose, et on procède, après incubation, à la mesure du diamètre d'inhibition comme dans la technique précédente (**Rhayour, 2002; Wilkinson, 2006**).

4.1.2.Méthode de microatmosphères

Dans cette méthode, les disques imprégnés par l'huile essentielle sont déposés au centre du couvercle de la boîte de Pétri, renversée pendant la durée de l'expérience (couvercle en bas), cette méthode est appelée « Méthode de microatmosphères ». Le disque n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé. Il se produit une évaporation des substances volatiles et on lit après incubation, la croissance des germes ou l'inhibition de leur croissance (**De Billerbeck et al., 2002; Lahlou, 2004; Baser et Buchbauer, 2010**). Cette méthode est rarement citée car les auteurs qui se sont penchés spécifiquement sur l'activité de la phase vapeur sont encore peu nombreux.

4.1.3.Méthode de dilution

La méthode par dilution à pour but d'évaluer des concentrations minimales inhibitrice. Elle consiste à déterminer la plus faible concentration d'un agent antimicrobien, nécessaire pour inhiber la croissance d'un microorganisme (**Oussou et al., 2008; Derwich et al., 2010**).

L'efficacité de l'huile essentielle testée est évaluée par la mesure de 2 concentrations : la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB). Ces concentrations nous permettent de connaître la nature de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle : bactériostatique ou bactéricide.

On ne dispose pas de définition officielle de ces grandeurs, les définitions données sont celles utilisées dans les études scientifiques. Elles sont donc susceptibles de varier d'un auteur à un autre.

4.1.3.1.Méthode de dilution d'agar

La méthode de dilution d'agar est plus économique que celle qui se pratique sur milieu liquide, parce qu'elle a beaucoup d'avantages : un grand nombre de souches peuvent être testées immédiatement, la contamination est facilement détectée et le milieu peut contenir des matériaux opaques. Elle consiste à réaliser des dilutions des huiles essentielles, et les incorporer dans le milieu gélosé fondu et refroidi à 45°C, et à tester sur ce milieu les souches bactériennes à étudier (**Benzeggouta, 2005; Wilkinson, 2006; Tepsorn, 2009**). Ces dernières sont ensemencées à la surface, soit en stries avec une anse calibrée (**Benzeggouta, 2005**), soit en point avec des micropipettes (**De Billerbeck et al., 2002; Mayachiew & Devahastin, 2008**). Cette méthode est utilisée comme un indicateur de l'activité antibactérienne, en plus de la recherche de la valeur

réelle lorsque c'est possible. Dans la littérature, les études publiées sur la méthode de dilution d'agar pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de plante aromatiques ou de leurs huiles essentielles ont employé différents dissolvants pour incorporer les extraits dans le milieu (Gachkar *et al.*, 2007; Su *et al.*, 2008).

4.1.3.2. Méthode de dilution de bouillon

La méthode de dilution en bouillon est utilisée aussi pour déterminer la concentration minimale inhibitrice. Une gamme de dilution des huiles essentielles est additionnée à une série de tubes contenant un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu (Kechkar, 2008).

Des méthodes de micro-bouillon ont été également développées, utilisant des microplaques et de ce fait réduisant le volume de l'extrait requis (Del-Vechio-Vieira *et al.*, 2009).

Une mesure de turbidité ou une utilisation d'un indicateur de viabilité des microorganismes permettent la détermination des concentrations minimales inhibitrices «resazurine, methyl thiazol diphenyl tetrazolium (MTT) » (Kamatou *et al.*, 2009; Hussain *et al.*, 2010). Les méthodes de microplaques nécessitent moins de temps et de moyens que d'autres méthodes (Wilkinson, 2006).

4.2. Description des bactéries étudiées

Bacillus subtilis :

Ce sont des bacilles à Gram positif, appartenant à la famille des *Bacillaceae*, et des germes de l'environnement que l'on trouve partout sur le sol et dans la poussière. La thermorésistance de leurs spores explique que l'on puisse les trouver comme contaminants dans les produits supposés stériles. Ils sont aéro-anaérobies, mobiles par une ciliature péritriche, à l'exception de *B. anthracis* qui est toujours immobile. Ces bactéries se développent sur gélose ordinaire à 37 °C (Ferron, 1983)

Bacillus cereus :

Bâtonnet à Gram positif, habituellement mobile. Endospore, aérobie ou anaérobie facultatif, appartenant à la famille des *Bacillaceae* (Dusant, 2005). *B. cereus* est un pathogène opportuniste émergent, fréquemment associé à des toxi-infections alimentaires. Les symptômes provoqués par *B. cereus* lors de contaminations alimentaires sont généralement ceux d'une gastro-entérite (Granum, 1994). Sont courantes dans l'environnement et peuvent contaminer les

aliments. Il peut se multiplier rapidement à température ambiante avec une toxine préformée abondamment présente (Nguyen et Tallent, 2019 ; Hölzel *et al.*, 2018).

Candida albicans :

Candida albicans est un organisme mycotique, c'est-à-dire qu'il fait partie de la famille des champignons, appartenant à la famille des *Saccharomycetaceae*. C'est l'espèce de levure la plus importante et la plus connue du genre *Candida*. Il est présent depuis toujours sur nos muqueuses, notre peau, ou bien encore dans notre intestin. Lors d'un déséquilibre immunitaire ou hormonal, il prolifère et devient pathogène en libérant des toxines. On parle alors de "candidose". Se présentent sous forme de blastospores (blastoconidies). Ce sont de petites cellules de 2 à 5 µm par 3 à 7 µm, globulaires, ovoïdes ou cylindriques selon l'espèce (Schoeters et van dijck, 2019).

Escherichia coli :

Bâtonnet à Gram négatif, C'est une bactérie immobile ou mobile avec une structure flagellaire péritriche et non-sporulée, appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa température optimale de croissance est de 37 °C. Bactérie non exigeante. (Baliere, 2016), *E. coli*, hôte normal de l'intestin de l'homme et des animaux souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines. C'est une bactérie largement répandue dans le milieu extérieur, sa présence en quantité importante témoigne d'une contamination fécale récente (Nauciel et Vildé, 2005)

Klebsiella pneumoniae :

Klebsiella pneumoniae sont des bacilles appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*, Gram négatif, immobiles, diplobacilles généralement capsulés, non sporulés, anaérobies facultatifs (El Fertas-Aissani *et al.*, 2012), et s'agencent de différentes manières ; soit en courtes chainettes, en diplobacilles et parfois même isolés (Ayan *et al.*, 2003 ; Jonas *et al.*, 2004).

K. pneumoniae est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée dans l'environnement à partir d'échantillons de sol, d'eaux de surface, d'eaux usées, de végétaux, et de muqueuses des mammifères, en particulier de la flore fécale. (Baerwolf *et al.*, 2002)

Proteus mirabilis :

Proteus mirabilis est une bactérie opportuniste appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. C'est un bâtonnet de 1 à 2 µm de longueur, polymorphe, Gram négatif, asporulé, anaérobie facultatif, mobile (Różalski *et al.*, 2012). Les *Proteus mirabilis* sont largement répandus dans l'environnement naturel, y compris l'eau polluée, le sol et le fumier, on les rencontre aussi dans la viande putride, des abcès (Kelley *et al.*, 2009).

Pseudomonas aeruginosa :

Est un bacille Gram négatif en forme de bâtonnet, appartenant à la famille des *Pseudomonadaceae*, mobile, aérobie strict. Il s'agit d'un microorganisme saprophyte de l'environnement, notamment au niveau de l'eau, des sols humides et des végétaux. Il est

également un commensal de l'homme, en particulier au niveau intestinal, considéré comme une bactérie opportuniste, provoquant des infections chez des patients ayant une diminution de leur système de défense immunitaire mais également physique. Ainsi, il est responsable, pour une large part, d'infections nosocomiales, notamment des sites respiratoires et urinaires (**Hafiane et Ravaoarinoro, 2008; Minchella et al., 2010**).

Staphylococcus aureus :

Ce sont des cocci Gram positif, appartenant à la famille des *Staphylococcaceae*. Ils sont immobiles, non sporulés. La majorité des *S. aureus* sont capsulés mais ils peuvent perdre leur capsule après culture. C'est une bactérie anaérobie facultative et elle est également mésophile, ayant une température optimale de croissance à 37 °C. (**Robert, 2013**). Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'Homme et de l'animal. L'habitat préférentiel de *S.aureus* chez l'Homme est la muqueuse nasale avec 10 à 40% d'individus porteurs de façon permanente (**El-Anzi, 2014**)

Chapitre II :

Présentation des plantes étudiées

1. *Foeniculum vulgare* Mill

Foeniculum vulgare est en effet le nom valide le plus ancien du genre *Foeniculum*, et il remonte à plus de 4 000 ans. Ce nom provient du latin "fenum" ou "foin", en raison de la finesse des divisions de ses feuilles. En grec, le fenouil était appelé "marathon" en référence à la bataille du même nom qui s'est déroulée dans un champ de fenouil (Myrtéa, 2015). Selon les règles internationales adoptées à Cambridge, le nom *Foeniculum vulgare* doit être attribué à Philip Miller, qui l'a d'abord publié de manière valide dans la huitième édition de son "Dictionnaire des jardiniers" en 1768 (Hill, 1756). Originaire de la région méditerranéenne et du Caucase, (Marotti et al., 1993) le fenouil est généralement considéré comme indigène sur les rives de la mer Méditerranée, mais il s'est largement naturalisé dans de nombreuses parties du monde, en particulier sur les sols secs près de la côte de la mer et sur les berges des rivières. Il a été cultivé en Russie, en Inde, en Chine et au Japon.

Le fenouil était utilisé par les anciens Égyptiens comme aliment et médicament, et il était considéré comme un remède contre les morsures de serpent dans la Chine ancienne (Al-Snafi, 2018).

1.1. Description botanique

Le fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.) est une plante herbacée vivace de la famille des *Apiaceae* (figure 10), originaire du bassin méditerranéen, cultivée et naturalisée dans diverses régions du monde. Il se présente sous forme de touffes atteignant jusqu'à 2 mètres de hauteur, avec des tiges cylindriques striées portant des feuilles finement découpées et des fleurs jaunes disposées en ombelles (Vienna et al., 2005). Ses fruits oblongs à 5 côtes sont aromatiques et ont une saveur anisée. On distingue le fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare* Mill. subsp. *piperitum* Ucria) des variétés cultivées, regroupées en trois groupes : amer, doux et bulbeux. Les graines de fenouil, généralement utilisées, ont des caractéristiques variées en termes de taille, de forme et de couleur, et dégagent une forte odeur douce (Stefanini, 2006). La plante est bisannuelle ou vivace, pouvant atteindre jusqu'à 2,5 mètres de hauteur, avec des tiges creuses. Les fleurs jaunes se présentent en ombelles et les fruits sont des graines sèches de 4 à 10 mm de longueur (Rather et al., 2012). Le fenouil est largement utilisé comme herbe aromatique et légume. Son utilisation remonte au Moyen Âge en Italie et il est récolté à la fin de l'été pour ses fruits (Boutaghane, 2013).

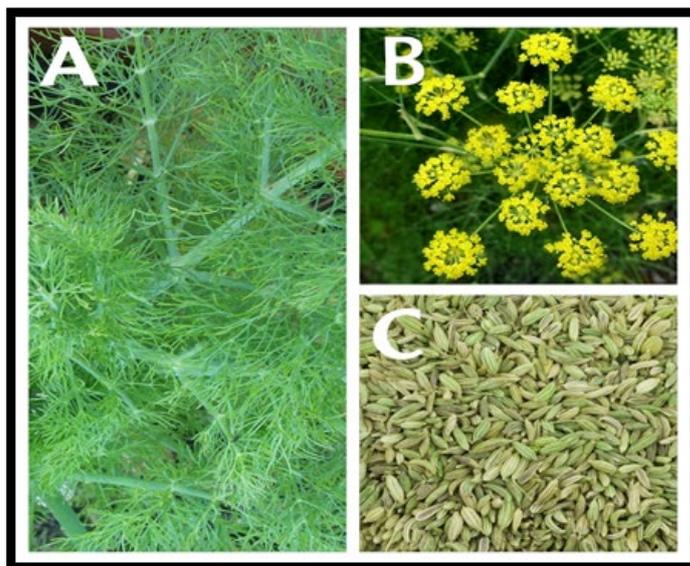


Figure 10 : Photos représentatives des feuilles de *Foeniculum vulgare* (A), des fleurs (B) et des graines (C) (Badgujar *et al.*, 2014) .

1.2. Classification botanique

Le feenouil commun (*Foeniculum vulgare* Mill.) est une plante appartenant à la famille des Apiacées (tableau 1), également connue sous le nom d'Ombellifères (Dupont et Guignard, 2007). Cette famille est reconnue pour sa richesse en huiles essentielles (tableau 3) (Amimar *et al.*, 2001; Olle et Bender, 2010)

Le genre *Foeniculum* est diversifié, mais se compose principalement de cette espèce, divisée en deux sous-espèces : ssp. *piperitum* et ssp. *vulgare*. La sous-espèce *vulgare* comprend trois variétés : *vulgare* (feenouil amer), *dulce* (feenouil doux) et *azoricum* (feenouil bulbeux) (Badoc *et al.*, 1995) .

Le fruit de cette dernière variété mesure plus de 10cm et pese jusqu'à 400g, formé par les feuilles basales qui ont grandi les uns avec les autres. En revanche, le feenouil doux développe des graines très aromatiques et légèrement sucrées.

Tandis que les deux variétés de feenouil présentées précédemment sont des plantes de jardin appréciées, le feenouil commun pousse également à l'état sauvage. On n'utilise en général que les graines de cette variété (Kothe, 2008).

Tableau 1 : La classification taxonomique du *Foeniculum vulgare* Mill (Shamkant *et al.*, 2014)

Règne	Plantae (Végétal)
Embranchement	Magnoliophyta (Plantes à fleurs)
Classe	Magnoliopsida (Dicotylédones)
Sous-classe	Asteridae (Astéridées)
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae (Apiacées)
Genre	<i>Foeniculum</i>
Espèce	<i>Foeniculum vulgare</i>
Nom botanique	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill

1.3. Nom vernaculaire de *Foeniculum vulgare* Mille

La plante porte différents noms vernaculaires selon sa répartition (tableau 2)

Tableau 2 : les noms vernaculaires de *Foeniculum vulgare* Mille dans différentes régions et langues (Shamkant *et al.*, 2014) .

Région/langue	Nom local
Arabic	Bisbas, razianaj
English	Bitter fennel, common fennel, sweet fennel, wild fennel
France	Fenouille
Germany	Fenchel, fenchle, bitterfenchel, wilder fenchel, dunkler fenchel,
Italy	Finocchio, finucchiello, finochietto, finocchiella, fenùcciu, fenucétu-sarvègu

1.4. Composition chimique du fenouil

F. vulgare contient 6,3% d'humidité, 9,5% de protéines, 10% de matières grasses, 13,4% de minéraux, de fibres et de 18,5% à 42,3% de glucides. Les minéraux et les vitamines présentes dans *F. vulgare* sont le calcium, le potassium, le sodium, le fer, le phosphore, la thiamine, la riboflavine, la niacine et la vitamine C (Rather *et al.*, 2012).

1.5. Les huiles essentielles

Les principaux composants des huiles essentielles des fruits de *Foeniculum vulgare* sont : (Senatore *et al.*, 2013), Trans-anéthole, Estragol, Fenchone, α -phellandrène, Alcool anisique, Anisaldéhyde, Monoterpènes (1 à 5%): (R)-limonène, α -pinène, camphre, p-cymène, myrcène, α - et β -phellandrènes, sabinène, γ -terpinène, cis- β -ocymène, terpinolène. D'autres constituants peuvent également être présents en plus petites quantités, tels que: Acides phénylacryliques, Alcools phénylalyliques, Acides phénolcarboxyliques, Hydroxycoumarines (traces) : osthénol, scoparine et ombélliférone, Furanocoumarines (traces) : bergaptène, impérorine et psoralène, Flavonoïdes (peu abondants), Trimères de stilbènes et leurs hétérosides, Lipides (9 à 21%), Protéines (20 à 30%) (Paloma, 2012) (tableau 3).

Tableau 3 : Composition chimique de les huiles essentielles de *Foeniculum vulgare* selon une analyse GLC-MS. : (Farukh *et al.*, 2017) .

Compounds	%
<i>trans</i> -Anethole	36.8
α -Ethyl- <i>p</i> -methoxybenzyl alcohol	9.10
<i>p</i> -Anisaldehyde	7.73
Carvone	4.87
1-Phenylpenta-2,4-diyne	4.75
Fenchyl butanoate	4.23
Neomenthol	3.62
(2 <i>E</i>)-Dodecenal	3.44
β -Ethyl- <i>p</i> -methoxybenzyl alcohol	3.27

<i>trans</i> -Thujone	2.95
Fenchone	2.75
Carvacrol	2.15
Linalyl acetate	1.88
Unidentified	1.39
(<i>E</i>)-Chrysanthenyl acetate	1.38
Thymol	1.03
Fenchyl isobutanoate	1.03
(<i>E</i>)- β -Terpineol	1.00
Linalool	0.75
<i>cis</i> -Thujone	0.74
(<i>E</i>)-Dihydrocarvone	0.64
Unidentified	0.64
Geranial	0.56
Myrtenyl acetate	0.54
<i>exo</i> -Fenchyl acetate	0.48
Penta-1,3-diynylbenzene	0.46
Dill ether	0.44
Methylchavicol (=estragole)	0.42
Unidentified	0.30
Caryophyllene oxide	0.25
Camphor	0.23
<i>iso</i> -Menthone	0.10
1-Hexadecene	0.08
Terpene hydrocarbons:	5.21
Oxygenated terpenoids:	85.78
Others:	6.70
Total identified:	97.67

1.6. Utilisation :

L'herbe a beaucoup d'usages de médecine culinaires et traditionnels. Les jeunes pousses, les feuilles et les fruits entièrement muris et séchés, sont couramment utilisés pour les remèdes maison. Ses fruits aromatiques ont été utilisés comme épices culinaires dans de nombreux pays. De plus, elle possédait des activités analgésiques, anti-inflammatoires et anti oxydantes, présentait aussi des activités antibactériennes et antivirales (Weiping et Baokang, 2011).

Il est utilisé pour traiter des affections simples (par ex. toux/rhume, coupures) à des affections très compliquées (par ex. reins maladies, cancer). Il a également un large éventail d'utilisations vétérinaires (Cornara *et al.*, 2009 ; Sharma *et al.*, 2012). *F. vulgare* est utilisé dans de nombreuses régions du monde pour le traitement d'un certain nombre de maladies, par exemple, douleurs abdominales, antiémétique, apéritif, arthrite, cancer, coliques chez l'enfant, conjonctivite, constipation, dépurative, diarrhée, diérèse, emménagogue, fièvre, flatulences,

gastralgie, gastrite, insomnie, côlon irritable, affections rénales, laxatif, leucorrhée, douleurs hépatiques, ulcères buccaux et maux d'estomac .

En plus de ses usages médicaux, les parties aériennes, à savoir, la feuille, la tige et le fruit/graine de *F. vulgare*, sont largement utilisés comme galactagogues non seulement pour augmenter la quantité et la qualité de lait mais aussi pour améliorer le débit de lait de l'allaitement mères (Lewu et Afolayan, 2009 ; Carri'o et Vall'es, 2012 ; Guarrera et Savo, 2013).

1.7. Toxicité

Aucune toxicité grave et/ou les effets indésirables ont été enregistrés après l'ingestion de fenouil sauf quelques cas de réactions allergiques. Il y a quelques rapports sur les réactions allergiques telles que l'asthme et la rhinite après l'ingestion de fruit.

Il a été rapporté que l'estragole, constituant important, est un agent cancérigène chez l'animal. Mais il faut considérer que le métabolisme de ce composé entre humaine et animal est différent et aussi que les effets secondaires entre forme isolée d'un agent et lorsque cet agent appliqué en tant que constituant naturel dans la production des mélanges multi-composants sont significativement différents (Rahami et Ardekani, 2013).

2. *Piper cubeba*

L'utilisation du *Piper cubeba*, est connue depuis l'antiquité en Chine où il était employé pour ses bienfaits sur les problèmes respiratoires. Il a été introduit en Occident par les marchands arabes au Moyen Âge .Dès le Xe siècle, il est apprécié et consommé en Europe. Les baies sont recherchées et leur usage fut constant jusqu'au XVIIIe siècle. Le poivre noir le fit oublier. C'est une plante grimpante et vivace de la famille des Pipéracées, originaire des îles indonésiennes, qui est cultivé majoritairement sur l'île de Java ou de Sumatra. Il peut être aussi cultivé au Sri Lanka, on le trouve le plus souvent au milieu plantations de café à côté desquelles il se plaît beaucoup. Les baies sont récoltées vertes avant maturité puis sont séchées au soleil qui leur donnera leur couleur foncée (Fluckiger et Hanbury, 1878).

2.1. Description botanique :

Piper cubeba ou poivre à queue, une plante originaire de Java et de Sumatra, parfois appelée poivre de Java, est principalement cultivée pour ses baies et son huile essentielle (Nahak et Sahu, 2011). C'est une plante vivace, à tiges et des branches grimpantes portant une couleur grise cendrée enracinées aux articulations pubescentes et glabrescent, et la plante mesure environ 5-15 m de haut, feuilles ovales-oblongues avec une base arrondie ; plusieurs nervures et un pédicule épais. La face inférieure de ces feuilles lisses et pointues est densément pourvue de minuscules glandes en creux. Elles sont entières, marginées, coriaces et peuvent atteindre 15 cm de long et 6 cm de large, fleurs unisexuées, petites, disposées densément sur le pédoncule, sans périanthe. Elles sont disposées en épis écailleux lisses mesurent environ 4 cm de long et possèdent 2 ou 3 étamines (figure 11).



Figure 11 : Photos représentatives des feuilles de *P. cubeba* (A), des fleurs (B) et des baies (C) (Drissi *et al.*, 2022) .

Celles qui sont femelles sont souvent courbées et constitués d'environ 50 fleurs individuelles dont la plupart sont constituées d'un ovaire oblong composé de 4 carpelles

fusionnés avec 4 stigmates sessiles. L'infructescence mesure 4-5 cm de long. La floraison a lieu pendant la saison des pluies. On peut savoir qu'elle est mature quand la base de l'ovaire se transforme en une tige cylindrique. Les fruits sont pédonculés, plus ou moins apiculés et sub-globuleux d'un diamètre de 6-8 mm. La partie supérieure du fruit cubique est globulaire, d'un diamètre de 3-6 mm de diamètre et recouverte d'un péricarpe brun grisâtre réticulé qui se prolonge à la base en un pédoncule droit. Ils possèdent une odeur épicée, aromatique et un goût un peu amer et âcre. De la paroi du fruit qui se brise sort une seule graine sous-globuleuse lisse et de couleur brun foncé. D'une largeur de 3-4 mm, qui contient un minuscule embryon, dans une petite cavité à l'apex (Ahmad *et al.*, 2012) .

2.2. Classification botanique :

Le genre Piper (famille des Piperacées) (tableau 4) comprend plus de 700 espèces réparties dans les régions tropicales et subtropicales du monde et est principalement utilisé pour les épices et les assaisonnements (Mesquita *et al.*, 2006 ; Hoff *et al.*, 2015) . *P. cubeba* est l'une des espèces les plus populaires de la famille des Piperacées et la population la plus répandue (Parmar *et al.*, 1997 ; Usia *et al.*, 2005)

Tableau 4 : La classification taxonomique du *Piper cubeba* (Alam *et al.*, 2013).

Règne	Plantae (Végétal)
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Piperales
Famille	Piperaceae
Genre	<i>Piper</i>
Espèce	<i>cubeba</i>

2.3. Noms vernaculaires de *Piper cubeba*

La plante porte différents noms vernaculaires selon sa répartition (tableau 5).

Tableau 5 : Les noms vernaculaires de *Piper cubeba*

Vernacular names	language	References
Hab-ul-Urus, Kabâbah, Kebaba, Hhabb El'arûs	Arabic	((Lim ,2012), (Alam <i>et al.</i> , 2013))
Tailed Peeper	English	((Alam <i>et al.</i> , 2013))
Cubèbe, Poivre À Queue, Poivre De Java, Poivrier Cubèbe, Quibebes	French	((Lim ,2012))
Cubebe, Pepe A Coda	Italian	((Lim ,2012))
Piper De Cubebe	Romanian	((Lim ,2012))

2.4. Composition chimique du *Piper cubeba* :

Les graines de poivre noir sont composées chimiquement en g/100g de 10.39 de protéines, 3.26 de lipide totale, 63.95 de carbohydate, 25.3 de fibre, 0.443 de Ca⁺⁺, 0.0 de vitamine C, 547 en IU de vitamine A, 1.39 d'acides gras saturés et 1.73 d'acides gras insaturés (Charles, 2013).

Les espèces de Piper sont caractérisées par la production de composés phytochimiques typiques tels que les acides benzoïques, les composés volatils, les amides, les chromenos, les terpènes, les phénylpropanoïdes, les lignanes, les alcaloïdes, les acides gras et les hydrocarbures (Jensen *et al.*, 1933) . L'alcaloïde pipérine et les deux lignanes cubébine et hinokinine sont les composés les plus abondants des baies (Yaffe *et al.*, 2013) .

2.5. Les huiles essentielles:

Les deux principaux constituants de cette huile sont Le méthyleugénol et l'eugénol. Les autres composants identifiés étaient présents à un taux plus faible, avec le (E)-caryophyllène (5,65%), le p-cymène-8-ol (3,50%), le 1,8-cinéole (2,94%) et l' α -terpinolène (1,41 %) (tableau 7).

Les phénylpropanoïdes représentaient la principale classe caractérisée (75,41 %), suivis des monoterpènes, comprenant à la fois les hydrocarbonés (9,71 %) et les oxygénés (3,06 %). Les sesquiterpènes hydrocarbonés étaient l'un des composés identifiés, avec une concentration de 1,69%, parmi l'ensemble des composés identifiés, en plus de ceux qui étaient légèrement oxygénés (8,26%) (Fahad *et al.*, 2020) .

Tableau 6: Constituants présents dans l'huile essentielle du fruit de *P. cubeba* déterminé par (GC-MS), (Fahad *et al.*, 2020) .

N°	Compounds	% Area
1	β -myrcene	1.23
2	Limonene	0.12
3	1,8-cineole	2.94
4	β -ocimene	0.30
5	α -terpinolene	1.41
6	Linalool	0.22
7	Terpinen-4-ol	1.80
8	p-cymene-8-ol	3.50
9	α -terpineol	0.96
10	Estragole	0.15
11	Citronellol	0.10
12	(E)-geraniol	0.19
13	Eugenol (main compound 2)	33.95
14	β -elemene	0.66
15	Methyleugenol (main compound 1)	41.31
16	(E)-caryophyllene	5.65

17	α -humulene	1.14
18	Germacrene D	0.15
19	α -selinene	0.47
20	δ -cadinene	0.19
21	Spathulenol	0.18
22	β -caryophyllene oxide	0.96
23	Viridiflorol	0.39
24	Isocembrol	0.16
Total identified %		98.13
Phenylpropanoids		75.41
Oxygenated monoterpenes		9.71
Hydrocarbonated sesquiterpenes		8.26
Hydrocarbonated monoterpenes		3.06
Oxygenated sesquiterpenes		1.69

2.6. Utilisation :

La présence d'insectes dans les aliments stockés par les humains entraîne à la fois une contamination et des dommages économiques substantiels, en particulier pendant la période chaude de l'été. Les études expérimentales ont montré que *Piper cubeba* produit environ 90 % d'activité insecticide lorsqu'il est utilisé correctement (Al-Iraqi et Abdulla, 2012).

En médecine traditionnelle, elles sont utilisées comme stimulants, apéritifs, stomachiques et expectorants. Le fruit du cubeba est également utilisé pour soulager les douleurs gastriques, l'entérite, la diarrhée et comme agent anti-inflammatoire. En outre, le fruit du cubeba est connu pour sa capacité à réduire la douleur et l'inflammation chez les animaux de laboratoire, ce qui est attribué à l'activité antioxydant de certains produits chimiques isolés (Choi et Jae-Kwan, 2003).

De nombreuses études ont révélé que les extraits aqueux et/ou alcooliques de *Piper cubeba* ont une bonne activité antimicrobienne contre les bactéries Gram positives et négatives sélectionnées ainsi que contre les champignons (Al-Tememy, 2013 ; Ekta et Sita, 2012).

Les activités antioxydantes de *Piper cubeba* ont été étudiées par de nombreux groupes de recherche qui ont mis en évidence la présence de différents constituants phytochimiques, notamment les polyphénols, les alcaloïdes, les glycosides et d'autres métabolites secondaires importants dotés d'une puissante activité antioxydante (Nahak et Sahu, 2011 ; Pachpute *et al.*, 2013 ; Ahmed *et al.*, 2017).

L'extrait éthanolique de fruits de *Piper cubeba* atténue les lésions hépatiques induites par le tétrachlorure de carbone (CCl₄), ce qui témoigne de l'activité hépatoprotectrice (Pachpute *et al.*, 2013)

Activité anticancéreuse : Dans divers modèles expérimentaux, il a été démontré que *Piper cubeba* supprime la formation de tumeurs (Gaziano *et al.*, 2016) .

2.7. Toxicité :

L'évaluation de la toxicité des extraits de *P. cubeba* a été rapportée dans de nombreuses études. Par exemple, il a été démontré qu'en utilisant le test au bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2yl)-2,5-diphényltétrazolium (MTT), les extraits de *P. cubeba* n'étaient pas toxiques pour les cellules RAW 264.7 (cellules monocytaires/macrophages). De plus, les fibroblastes oraux normaux traités avec des composés à base de *P. cubeba*, principalement la méthylcubebine, la dihydrocubébine et l'hinokinine, n'ont montré aucun signe de cytotoxicité ni de changements morphologiques (Gusson-Zanetoni *et al.*, 2022) .

Partie Expérimentale

Chapitre IV :

Matériel et Méthodes

1. Matériel végétal

Le matériel ou l'organe végétal qu'on a choisi dans la présente étude est représenté par les graines sèches des deux plantes différentes (*Foeniculum vulgare* Mille) et (*Piper cubeba*)

Les graines ont été achetées d'une boutique d'herboristerie de Mostaganem (W3MR+3PX Mostaganem) (figure 12).



Figure 12 : les graines de : 1- *Foeniculum vulgare* ; 2- *Piper cubeba*

2. Détermination du taux d'humidité

Le taux d'humidité est déterminé selon (AOAC, 2000). Une quantité de 10 g de graines est placée sur une boîte en verre. La boîte et son contenu sont ensuite placés dans une étuve à 40 °C, quand l'échantillon atteint un point d'équilibre (poids fixe), on calcule donc, l'humidité de notre échantillon après séchage, par la formule suivante :

$$H (\%) = \frac{m - m'}{m} \times 100\%$$

m : masse de l'échantillon avant le séchage

m': masse de l'échantillon après le séchage = masse (boîte + échantillon séché) – masse du boîte vide

3. Préparation des échantillons pour l'extraction

Tous les essais qui suivent ont porté sur du matériel séché à l'air libre, à l'abri de la lumière. Le matériel végétal a été ensuite finement broyé à l'aide d'un moulin à couteaux ou à l'aide d'un broyeur à bille afin de permettre une bonne extraction. Les poudres des échantillons préparés sont ensuite, conservées dans des flacons à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation. La conservation se fait dans des flacons hermétiques au réfrigérateur. Toutes ces opérations permettent de pallier à la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités enzymatiques de leur dénaturation (Benamar, 2008).

4. Extraction des huiles essentielles par la technique d'hydrodistillation (*Clevenger*) et des composés phénoliques (extrait aqueux)

L'hydrodistillation c'est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon, le tout est ensuite porté à l'ébullition. Le vapeur est condensé dans un réfrigérant et les HEs se séparent de l'eau par différence de densité (**Bouhaddouda, 2015**)

Une hydrodistillation a été assurée grâce à un appareil de type *Clevenger* (figure 13), où 100 g des graines sont introduites avec 1 L d'eau distillée dans un ballon de 5 L. Après installation et fermeture du montage, la mise en marche de la chauffe ballon est effectuée avec un réglage optimum du chauffage pour permettre une stabilité de l'extraction à une vitesse constante et bien maîtrisée. (**Merabet, 2018**)

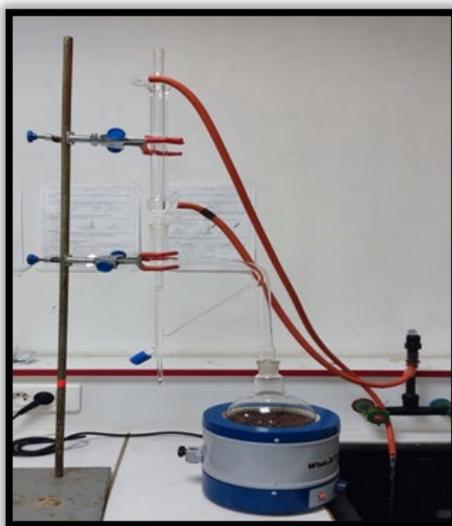


Figure 13 : Dispositif d'hydrodistillation *Clevenger*.

La vapeur chargée des huiles essentielles arrive dans le condenseur. La durée totale de l'extraction est estimée à 3 h (jusqu'à ce qu'on obtienne plus d'HE). Elle est ensuite séchée par du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) puis récupérée et conservée dans des tubes de couleur brune, hermétiquement fermés et stockés dans un endroit frais ($4\text{ }^\circ\text{C}$) à l'abri de la lumière (**Merabet, 2018**)

Selon la norme **Afnor (1986)**, le rendement en huiles essentielles (RHE), est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction (M') et la masse de la matière végétale utilisée (M). Il est donné par la formule suivante :

$$\text{RHE} = M'/M \times 100$$

RHE : rendement en huiles essentielles des graines du fenouil

M' : masse de des huiles essentielles obtenue en gramme

M : masse des graines du fenouil utilisée en gramme et qui vaut 100 g.

L'extrait aqueux est préparé *via* le mode d'extraction traditionnelle « macération » qui consiste à mettre sous agitation mécanique 10g de poudre de graine dans 100 ml d'eau distillé pendant 24 h à température 37 °C, le mélange obtenu est filtré et le filtrat est mis sur boîte en verre dans l'étuve pour l'évaporation d'eau (**Kettab *et al.*, 2021**)

La détermination du rendement de l'extrait sec est réalisée en appliquant la formule suivante (**Afnor, 1986**)

$$R \% = (P_1 - P_2 / P_3) \times 100$$

P₁: poids du ballon après évaporation

P₂: poids du ballon avant évaporation

P₃: poids de la matière sèche

5. Dosage des composés phenoliques

Dans le but de déterminer la teneur en composés phénoliques des extraits des graines de *Fenouil vulgare* et *Piper cubeba*, deux protocoles ont été suivis afin de doser les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes.

5.1. Dosage des Polyphenols totaux

Les polyphenols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie selon la méthode de *Folin Ciocalteu* (**Singleton *et al.*, 1999**).

Le principe de détermination de la teneur en polyphenols totaux repose habituellement sur une analyse colorimétrique effectuée avec le spectrophotomètre UV-Vis en utilisant le réactif de *Folin-Ciocalteu*. Les propriétés colorimétriques de réactif de *Folin-Ciocalteu* sont modifiées lorsqu'il est complexé à certaines molécules. Il réagit avec la fonction –OH des phénols (**Catalano *et al.*, 1999**). Ce réactif est forme d'acide phosphomolybdique H₃PMO₁₂O₄ et d'acide phosphotungstique H₃PW₁₂O₄ qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstene W₈O₂₃ et de molybdène MO₈O₃, cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée.

Le protocole consistait à ajouter 200 µl de chaque extrait (dissous dans le méthanol) à 1 ml de réactif de *Folin-Ciocalteu* dilué 10 fois. Les solutions ont été mélangées et ajoutées dans 800 µl de la solution de carbonate de sodium Na₂CO₃ (75g /l) . Le mélange final a été secoué et puis incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre à 765 nm.

La teneur en polyphénols est exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par microgramme d'extrait sec (mg EAG/µg) à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée dans les mêmes conditions avec des concentrations précises d'acide gallique utilisé comme standard) (**Wong *et al.*, 2006**).

$$\text{Polyphénols} = A \cdot F/C$$

A : Concentration de Polyphénols (μg Eq acide gallique/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

F : Facteur de dilution.

C : Concentration de l'extrait.

5.2. Dosage des Flavonoïdes :

La méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par (Djeridane *et al.*, 2006 ; Boudiaf, 2006) est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans nos extraits.

Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl_3) 2%. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 510 nm

Le protocole consiste à ajouter 1 ml de chaque extrait ou du standard (dissous dans le méthanol) avec les dilutions convenables à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2 % dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation dans l'obscurité. Le Quercétine est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents Quercétine par mg d'extrait sec (μg EQ/mg d'extrait). (Ardestani et Yazdanparast, 2007).

$$\text{Flavonoïdes} = A \cdot F/C$$

A : Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

F : Facteur de dilution

C : Concentration de l'extrait

6. Activité antioxydante :

6.1.test de DPPH :

Le pouvoir anti radicalaire, par la neutralisation du radical DPPH \cdot de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par (Blois, 1958) légèrement modifiée.

L'activité antioxydante des extraits à été mesurée in vitro par le 2,2.-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacee photometrablea 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome hydrogene conduit à la formation de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine DPPH de coloration jaune-verte (figure 14) . L.intensite de la couleur est proportionnelle a la capacité des antioxydants présents dans le milieu a donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002).

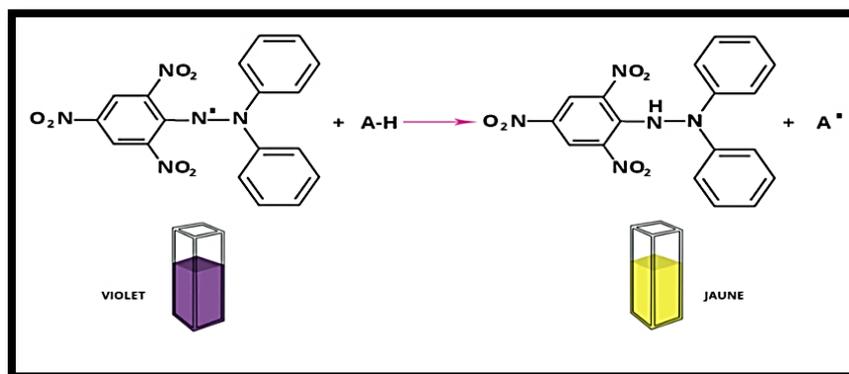


Figure 14 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant (Cillard, 2006)

Le DPPH (24mg) est dissout dans 100 ml de méthanol absolu pour préparer une solution stock, la solution étalon de travail est préparée en diluant la solution stock de DPPH avec du méthanol pour obtenir une absorbance de $1.1(\pm 0,02)$ à 515 nm.

Un volume de 150 μ l de chaque extrait (ou HE) à différentes concentrations a été ajouté à 2850 μ l de la solution méthanolique de DPPH. Le mélange réactionnel est incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes. La lecture est réalisée à 515 nm.

Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard ; l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété 3 fois.

L'activité est estimée selon l'équation ci-dessous :

$$PI (\%) \text{ DPPH} = 100 \times (A \text{ control} - A \text{ échantillon}) / A \text{ control}.$$

A control : représente l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sauf l'extrait testé).

A échantillon : représente l'absorbance du l'extrait (ou HE) testé

7. Activité antimicrobienne

7.1. Les souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées ont été fournies par le laboratoire de microbiologie végétale (figure 15)

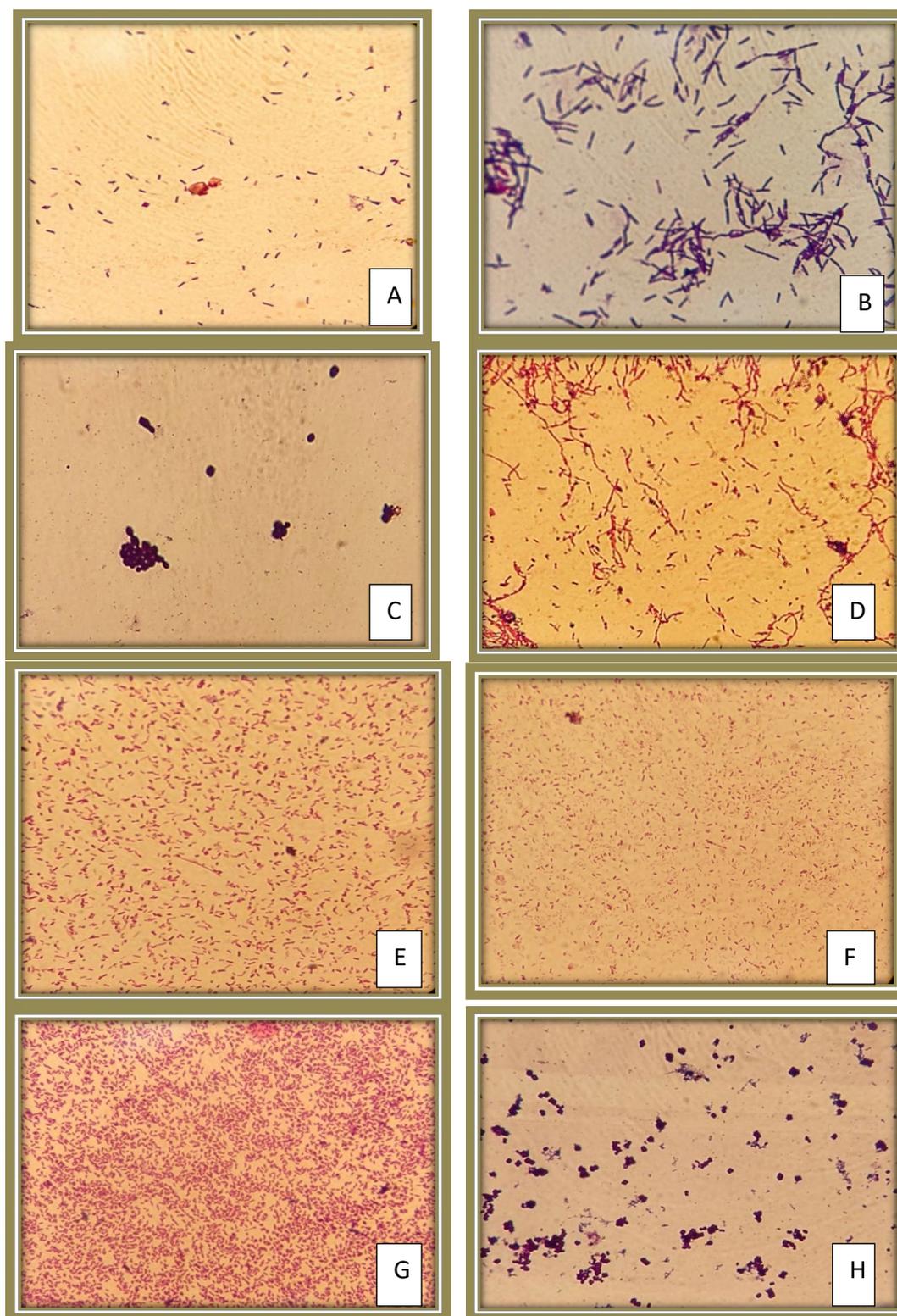


Figure 15 : Coloration de Gram de huit souches étudiées : A : *Bacillus subtilis* ATCC6633 ; B : *Bacillus cereus* ATCC10876 ; C : *Candida albicans* ATCC10231 ; D : *Escherichia coli* ATCC25922 ; E : *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603 ; F : *Proteus mirabilis* ATCC35659 ; G : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 ; H : *Staphylococcus aureus* ATCC25923

Préparation des inoculum : L'inoculum bactérien a été préparé en prélevant une colonie de la culture mère qui a été introduite dans un tube stérile contenant d'eau physiologie (NaCl à 0,09%). (Yala *et al.*, 2016)

7.2. Diffusion en milieu solide

La diffusion en milieu solide va permettre de déterminer la zone d'inhibition. Deux méthodes sont utilisées : diffusion de disque et diffusion de puits d'agar.

7.2.1. Méthode de diffusion de disque (l'aromatogramme)

Un essai de diffusion sur disque est utilisé pour déterminer l'inhibition de la croissance des bactéries par les huiles essentielles. Dans cette procédure, 20 ml de l'agar de Muller Hinton en surfusion sont coulés dans des boîtes de Pétri. Après solidification du milieu de culture chaque plaque de gélose a étéensemencée avec une colonie du microorganisme d'essai (8 souches). Ensuite, des disques de papier filtre, imprégnés à 5µl d'HE pure sont placés sur la surface de la gélose (la méthode a été réalisée aussi sur l'HE diluée 10%) (figure 16). Les boîtes de Pétri sont incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures. L'HE diffuse dans la gélose et inhibe la croissance du micro-organisme d'essai, puis les diamètres des zones de croissance d'inhibition sont mesurés. Cette zone claire autour des disques est proportionnelle à l'activité antibactérienne de l'huile essentielle. Cependant, puisque l'inhibition de la croissance bactérienne ne signifie pas la mort bactérienne, cette méthode ne peut pas distinguer les effets bactéricides et bactériostatiques des huiles essentielles. Chaque test a été réalisé 3 fois. (Martins , 2020).

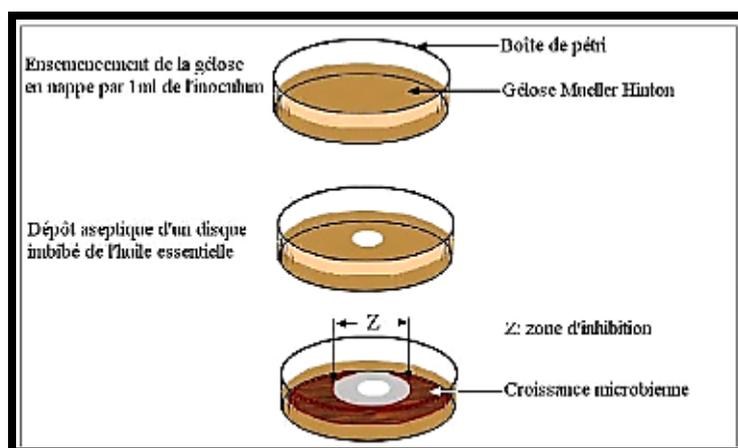


Figure 16 : Illustration de la méthode d'aromatogramme (Zaika, 1988).

7.2.2. Méthode de diffusion de puits d'agar

La gélose MH a étéensemencée par écouvillons stérile de l'inoculum bactérien .Ensuite des puits ont été réalisés dans la gélose. Enfin, 50 µl de solution (50mg /100mg/150mg) de l'extrait aqueux ont été déposés et les boites incubées à 37 °C/24h (figure 17). L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant, à l'aide d'un pied à coulisse, le diamètre de la zone d'inhibition induite

par les extraits (Badole et Bodhankar 2010 ; Alsarhan *et al.*, 2013). Chaque test a été réalisé 3 fois.

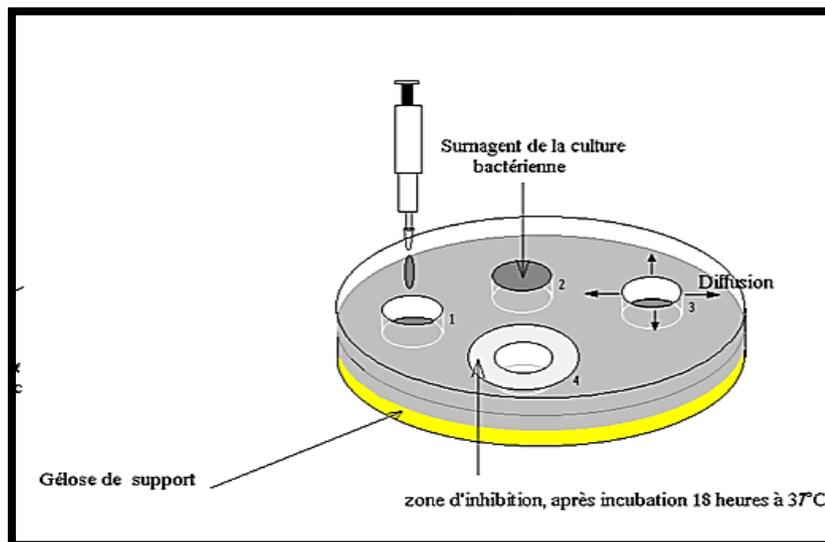


Figure 17 : Méthode de diffusion en puits (Kihal *et al.*, 2007)

7.3.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et (CMB)

Pour déterminer la CMI dans la microplaque, il est nécessaire de connaître la dose initiale de dilution dans la microplaque, donc, les huiles ont été diluées à 10% et fait la technique de contact direct par diffusion en milieu gélosé (en disques), qui permet de prévoir l'efficacité *in vitro* des huiles essentielles.

Pour la détermination de la CMI individuelle de l'extrait et de l'huile essentielle contre les souches bactériennes étudiées, nous avons utilisé la méthode de la microdilution. Les solutions mères de l'huile essentielle (10%) (Lakhdar *et al.*, 2016) et l'extrait (100 mg/ml) (Hamed, 2022) ont été préparées en les dissolvant dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Les solutions mères sont diluées par progression géométrique (les résultats sont calculés à partir de dilutions internes) de façon à obtenir les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 et 1/128. Un volume final de 200 µl dans chaque puits (1 à 9 et 11 = control positif ; 12 = control négatif) de microplaque contenant 90 µl de MHB (Bouillon Mueller Hinton) et 10 µl de la suspension microbienne de 10⁶ UFC/ ml complété par 100 µl de chaque dilution de l'extrait ou de l'huile essentielle. Les microplaques ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. La détection de croissance des différents germes se fait par l'ajout d'un indicateur de croissance bactérienne Triphényl Tétrazolium Chloride (TTC) (0,04%) juste avant la lecture (Shafiei *et al.*, 2012). 40 µl sont versés dans tous les puits, et incubés durant 30 min à 37°C. Une couleur rose apparaît suite à la croissance bactérienne. (Sharma *et al.*, 2020)

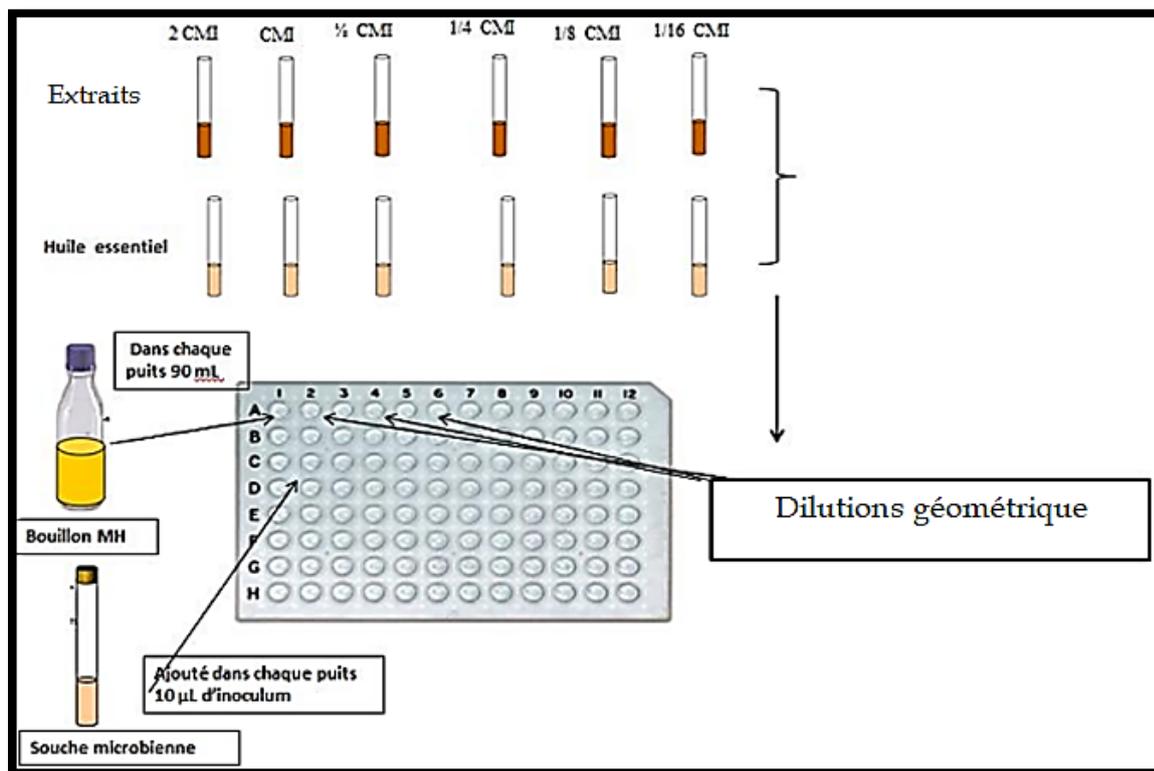


Figure 18 : Schéma récapitulatif du protocole de détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI (Hamed ,2022).

La CMB est définie comme étant la plus faible concentration des huiles essentielles et les extraits qui détruisent 99,9% (soit moins de 0,1% de survivants) de la concentration cellulaire finale. (Moroh *et al.*, 2008).

Après la détermination de la CMI, les puits contenant les concentrations en huiles essentielles et l'extrait strictement supérieur à la CMI ont servi pour la détermination de la CMB (Moroh *et al.*, 2008).

Nous avons ensemencée par strie (5 cm) un échantillon de chaque puits (ne présentant pas de croissance) sur une Gélose Mueller Hinton puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. Cette technique nous permet de vérifier si les cellules sont viables et cultivables . En parallèle, le témoin (*inoculum*) a été dilué à l'eau physiologique jusqu'à 10-4 . Elle est ensemencée par strie de 5 cm sur une Gélose *Mueller Hinton* puis incubée à 37 °C pendant 24 heures. Le nombre de colonies de bactéries obtenu sur la strie de la dilution 10-4 a été comparé à celui de chaque puits expérimental contenant l'inoculum .Ainsi, le premier tube expérimental dont le nombre de colonies présent sur sa strie est inférieur ou égal à celui de la dilution 10-4 correspondra à la CMB (Moroh *et al.*, 2008).

8. Traitement Statistique

Toutes les données ont été exprimées sous la forme valeur moyenne \pm écart type (SD) en utilisant EXCEL. Les données ont été analysées (ANOVA) à l'aide de Minitab 2021 pour La différence a été considérée comme statistiquement significative à $P < 0,05$.

Chapitre V :
Résultats et Discussion

1. Le taux d'humidité :

Les données relatives aux taux d'humidité et à la teneur en matière sèche des graines de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba* sont présentées sur le tableau (7)

Tableau 7 : La teneur en matière sèche des graines de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba*

	<i>F. vulgare</i>	<i>P. cubeba</i>
Taux d'humidite	7,62	9,8
matière sèche	92,3	90,02

Les résultats obtenus ont révélé un taux d'humidité de l'ordre de 9,8% pour *P.cubeba* et 7,62% pour *F.vulgare* ; et un rendement en matière sèche de 90% pour *P.cubeba* et 92,3% pour *F.vulgare*.

La déference observée dans les teneurs en eau peut être attribuée à des facteurs tels que la saison et la région de récolte. Les plantes cultivées dans des régions tempérées comme le sud de l'Algérie tendent à présenter des taux d'humidité plus faibles par rapport à celles cultivées dans le nord (**Hamoudi, 2012**).

2. Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation :

Nous rappelons que l'huile essentielle a été extraite des graines sèches de fenouil à l'aide d'un hydrodistillateur de type *Clevenger*. Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur aromatique caractéristique. Les résultats obtenus indiquent que les graines de fenouil étudiées sont riches en huiles essentielles, avec un rendement moyen de 1,02 %.

Le rendement en huiles essentielles de *F. vulgare* (1,02 %) est supérieur à celui de *P.cubeba* (0,92 %), comme présenté sur le tableau (8)

Tableau 8 : Rendement des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation.

	<i>F. vulgare</i>	<i>P. cubeba</i>
La masse	100g	100g
Rendement	1,02%	0,92%

En comparant nos résultats avec des études antérieures, nous avons constaté qu'une extraction des huiles essentielles à partir des graines de fenouil par hydrodistillation, réalisée en Algérie, a abouti à un rendement de 1,00 % (**Ouis, 2015**), tandis qu'une autre étude menée en France dans des conditions similaires d'extraction a donné un rendement de 2,1 % (**Lazouni et al., 2006**). En général, le rendement en huile essentielle des graines de fenouil varie de 2,5 à 6 %, avec une moyenne de 3,5 % (**Garnéro, 1996**).

Pour *Piper cubeba*, nous avons obtenu une huile de couleur jaune clair à partir du processus d'hydrodistillation, avec un rendement de 0,92 %. En comparant nos résultats avec des études antérieures, nous avons trouvé qu'une extraction des huiles essentielles des graines de cubeba par hydrodistillation, réalisée en Arabie saoudite, a donné un rendement de 1,00 % (Alminderej *et al.*, 2020), tandis qu'une autre étude menée en Indonésie a obtenu un rendement de 1,23 % (Andriana *et al.*, 2019).

Cette disparité pourrait être expliquée par divers facteurs tels que la période de récolte, le climat, la zone géographique, l'origine de la plante, l'organe de la plante utilisé, ainsi que la méthode d'extraction. Ces facteurs sont connus pour avoir un impact direct sur les rendements d'extraction en huiles essentielles (Kelen et Tepe, 2008).

3. Rendement d'extraction des deux extraits :

La méthode d'extraction aqueuse des plantes étudiées a permis d'obtenir les rendements en extraits bruts enregistrés dans le tableau (9)

Tableau 9: Rendements de l'extrait brut des plantes étudiées.

	<i>F.vulgare</i>	<i>P.cubeba</i>
La masse	100g	100g
Rendement	9,431%	8,03%

Le rendement d'extraction des plantes est significatif en comparaison avec d'autres études antérieures. Par exemple, l'étude de Chichi et Chergui (2021) a rapporté des valeurs de 18,5 % pour *P.cubeba*, tandis que Ennadir *et al.* (2014) ont trouvé des rendements évalués à 5,1 % pour *F. vulgare*.

En examinant les résultats obtenus, nous pouvons conclure que *Foeniculum vulgare* est riche en molécules polaires, ce qui se reflète dans le rendement supérieur de l'extrait aqueux par rapport à celui de *Piper cubeba*. Cette observation suggère que les molécules présentes sont fortement polaires.

Les variations des rendements d'extraction d'une étude à l'autre peuvent être attribuées à divers facteurs, notamment la méthode et les conditions d'extraction, ainsi que l'espèce et l'origine géographique de la plante (Haddouchi *et al.*, 2016).

4. Etude phytochimique de *Foeniculum vulgare* et *Piper cubeba*

4.1. Dosage des polyphénols

Les quantités des polyphénols correspondantes de chaque extrait ont été rapportées en équivalent gramme d'acide gallique (figure 19) et déterminé par l'équation de type :

$$y = 0,0176x + 0,024 \text{ , Sachant que } R^2 = 0,9937.$$

Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalent d'acide gallique par un gramme de l'extrait.

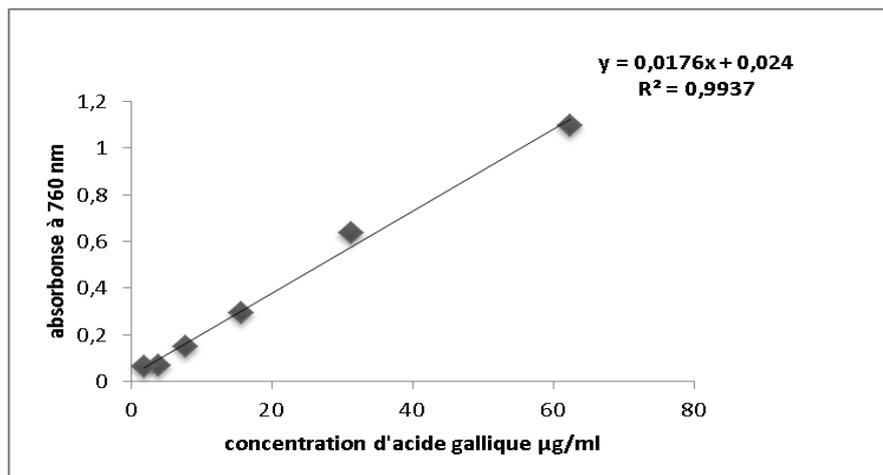


Figure 19 : Courbe d'étalonnage des polyphénole mg AGE/ μ g

Des teneurs variables en polyphénols sont observées dans les deux extraits de plantes étudiés. La concentration la plus élevée des polyphénols totaux (80 mg d'extrait d'AGE/ μ g) est significativement différente ($p < 0,05$), comme indiqué dans le tableau (10)

Tableau 10 : Teneur en polyphénole totaux des extraits *P.cubeba* et *F.vulgare*

Plante	N	Polyphénols totaux	EcTyp	P-valeur
<i>F.vulgare</i>	3	12,27	$\pm 6,13$	0,014
<i>P.cubéba</i>	3	80,1	$\pm 27,1$	

4.1.2. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes de chaque extrait a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine (figure 20) qui suit une équation de type :

$$y = 0,0034x + 0,0005 \text{ sachant que } R^2 = 0,9967$$

Les résultats sont exprimés en milligrammes équivalent en Quercitine par gramme de la matière sèche.

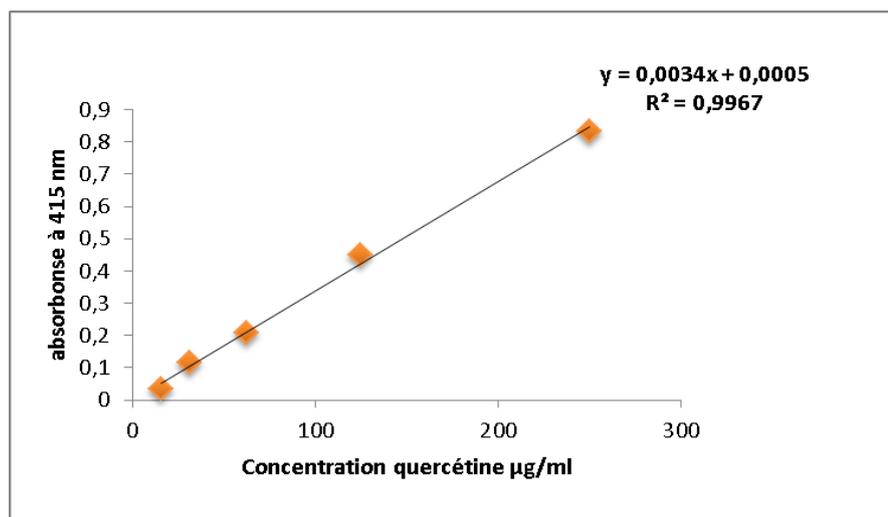


Figure 20 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes mg EQ /µg

Des teneurs variables se retrouvent dans les deux extraits de plantes étudiés. La concentration la plus élevée de flavonoïdes (185,6 mg d'extrait d'EQ/µg), n'indique pas de différence significative entre les plantes ($p > 0,05$), comme indiqué dans le tableau 11

Tableau 11 : Teneur en flavonoïdes de les extraits *P.cubeba* et *F.vulgare*

Plantes	N	Flavonoïdes	EcTyp	P-Valeur
<i>F.vulgare</i>	3	185,6	±18,6	0,408
<i>P.cubéba</i>	3	165,7	±32,4	

Il existe une différence significative entre les deux plantes étudiées, il apparait que le cubebe est le plus riche en polyphénols avec une teneur de $80,11 \pm 18,1$ mg EAG/µg, par contre dans flavonoïdes les plus élevés chez l'espèce (*F. vulgare*) avec une teneur $185,63 \pm 12,8$ mgEAG/µg (figure 21)

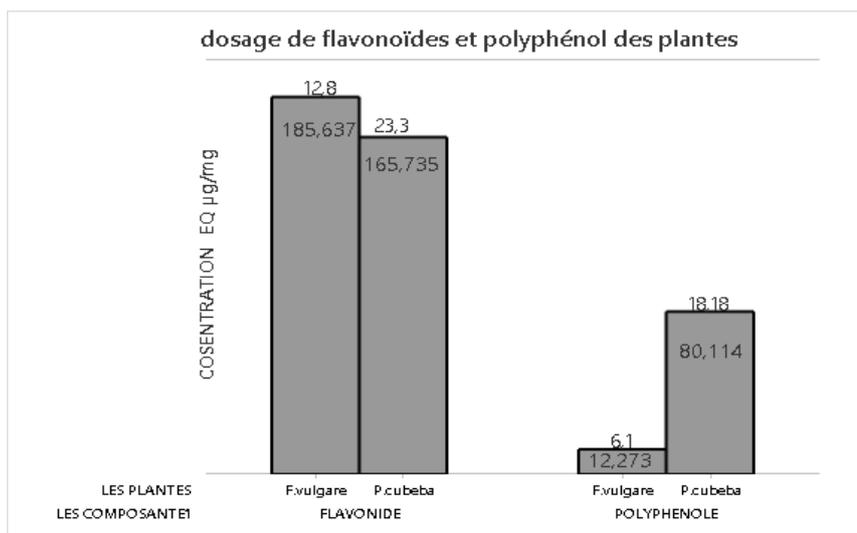


Figure 21: Dosage des flavonoïdes et des polyphénols totaux des deux plantes (*P.cubeba* et *F.vulgare*)

En comparant nos résultats avec des études antérieures, nous avons trouvé dans un mémoire une étude sur l'extrait aqueux de cubebe une teneur de 185,3 µg EAG/mg d'extrait. En ce qui concerne *Foeniculum vulgare*, comparativement à l'étude menée par **Parejo et al. (2002)**, le dosage des polyphénols a révélé des teneurs variantes de $36,99 \pm 0,9$ à $401,37 \pm 19,42$ mg GAE/mg, tandis que pour les flavonoïdes, une autre étude sur l'extrait aqueux de cubebe a trouvé une teneur de 35,44 µg EQ/mg (**Chichi et Chergui, 2021**) et pour *Foeniculum vulgare*, une étude sur l'extrait aqueux a trouvé une teneur de $0,45 \pm 0,01$ mg eq/100 g (**Fatoun et Saheb, 2015**).

Les différences significatives entre nos résultats et ceux des études antérieures peuvent probablement être attribuées aux différences génotypiques et environnementales existantes, même au sein d'un même genre (**Wojdyło et al., 2007**). Il est donc difficile de comparer nos résultats avec ces travaux, car l'utilisation de différents organes végétaux, de différentes méthodes d'extraction, de différents solvants d'extraction et de différentes courbes d'étalonnage (catéchine, quercétine, rutine) réduit la fiabilité de la comparaison entre les études.

Nos résultats indiquent que les épices appartenant à la famille des Pipéracées présentent une teneur plus élevée en polyphénols totaux. Cette observation est cohérente avec l'étude menée par **Wojdyło et al. (2007)**, qui ont montré que les plantes de la famille des *Ombellifères* présentent des teneurs plus basses en polyphénols.

5. Activité antioxydante :

Dans notre étude, chaque extrait a été soumis à une analyse visant à déterminer la valeur IC_{50} , qui représente la concentration nécessaire de l'échantillon testé pour réduire de 50 % le radical DPPH. Les valeurs IC_{50} ont été calculées à l'aide de régressions linéaires appliquées aux graphiques obtenus en traçant les pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des fractions testées et des standards. Conformément aux travaux de **Kadri et Békir (2011)**, une valeur plus basse de l' IC_{50} , c'est-à-dire la concentration du substrat qui entraîne une inhibition de 50 % de l'activité de DPPH, est indicative d'une activité antioxydante plus élevée.

5.1. Activité antioxydant des huiles :

Le tableau (12) présente le pouvoir antioxydant des huiles ainsi que de l'acide ascorbique. L'activité anti-radicalaire de *P. cubeba* s'est avérée être la plus puissante, avec une IC_{50} de 0,029 mg/mL, ce qui était très proche de celle du témoin positif, l'acide ascorbique ($IC_{50} = 0,0558$ mg/mL), Cette activité était considérablement plus élevée que celle observée pour *F. vulgaree*. Par ailleurs, les huiles ont démontré un effet antioxydant significativement différent ($p < 0,05$) par rapport aux normes de référence.

Tableau 12 : Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles ainsi que de l'acide ascorbique

Plante	N	IC_{50} des HES (mg/ml)	Acide Ascorbique	EcTyp	P-Valeur
<i>F. vulgare</i>	3	43,82	0,0558	$\pm 11,61$	0,006
<i>P. cubeba</i>	3	0,02998		$\pm 0,00438$	

5.2. l'activité antioxydante pour les extraits:

L'extrait de *P. cubeba* a démontré un effet inhibiteur plus élevé sur les antioxydants, avec une valeur d' IC_{50} dans le test DPPH de 0,19 mg/ml, ce qui est plusieurs fois plus élevé que celui de *F. vulgare*, en accord avec sa capacité antioxydante élevée. Cependant, en comparaison avec les normes de référence, les extraits ont exhibé un effet antioxydant significativement plus faible ($p < 0,05$). (tableau 13)

Tableau 13 : le pouvoir antioxydant des extraits ainsi que de l'acide ascorbique

Plante	N	IC_{50} de l'extrait (mg/ml)	Acide Ascorbique	EcTyp	P-valeur
<i>F. vulgare</i>	3	7,481	0,05580	$\pm 1,379$	0,002
<i>P. cubeba</i>	3	0,1960		$\pm 0,0338$	

En comparant nos résultats avec ceux des études antérieures, nous avons trouvé que dans une autre étude, l'activité antioxydante de l'huile de *P. cubeba* est rapportée comme étant de

(110.00 ± 0.08 µg/mL) (Alminderej *et al.*, 2020). De plus, pour l'extrait aqueux de *P. cubeba*, l'IC50 est indiqué comme étant de 89,26 µg/ml (Chichi et Chergui, 2021). Dans une autre étude, l'activité antioxydante de l'huile de *F. vulgare* est rapportée comme étant de 872 µg/ml (Ouis, 2015), tandis que pour l'extrait aqueux, elle est de 68,64 mg/ml (Fatoun et Saheb, 2015).

La variabilité des résultats d'activité anti-radicalaire est influencée par les différentes périodes de récolte de la plante dans l'année, ainsi que par les impacts des facteurs environnementaux sur la composition chimique des huiles essentielles et sur leurs activités biologiques (Ijaz *et al.*, 2008).

Les valeurs antioxydantes peuvent dépendre de la présence de différents composés photochimiques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, etc. Il est rapporté que les phénols sont responsables de la variation de l'activité antioxydante de la plante. Il a été déterminé que l'effet antioxydant des produits végétaux est principalement dû à l'activité de piégeage radical des composés phénoliques tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols et les tanins (Santosh *et al.*, 2022).

La différence entre les substances bioactives présentes dans les différents extraits de plantes et leur contenu peut s'expliquer par la divergence entre l'effet antioxydant des extraits de plantes (Mokrani et Madani, 2016).

6. Activité antibactérienne

6.1. Sensibilité des bactéries à l'huile essentielle de *feoniculum vulgare* et *piper cubeba* :

Nous avons obtenu les résultats représentés par la figure 22 ci-dessous, L'activité antibactérienne des huiles essentielles et l'extraits des plantes *P.cubeba* et *F.vulgares* on été évaluée contre 7 souches bactériennes et levure *Candida.albicans* par la méthode de diffusion en disque (Martins, 2020) et en puits pour l'extrats (Badole et Bodhankar, 2010 ; Alsarhan *et al.*, 2013).

L'activité antibactérienne peut être divisée en trois niveaux (Rota *et al.*, 2008 ; Lv *et al.*, 2011) :

faible activité (zone d'inhibition ≤ 12 mm)

activité moyenne (12 mm < zone d'inhibition <20 mm)

forte activité (zone d'inhibition ≥ 20 mm)

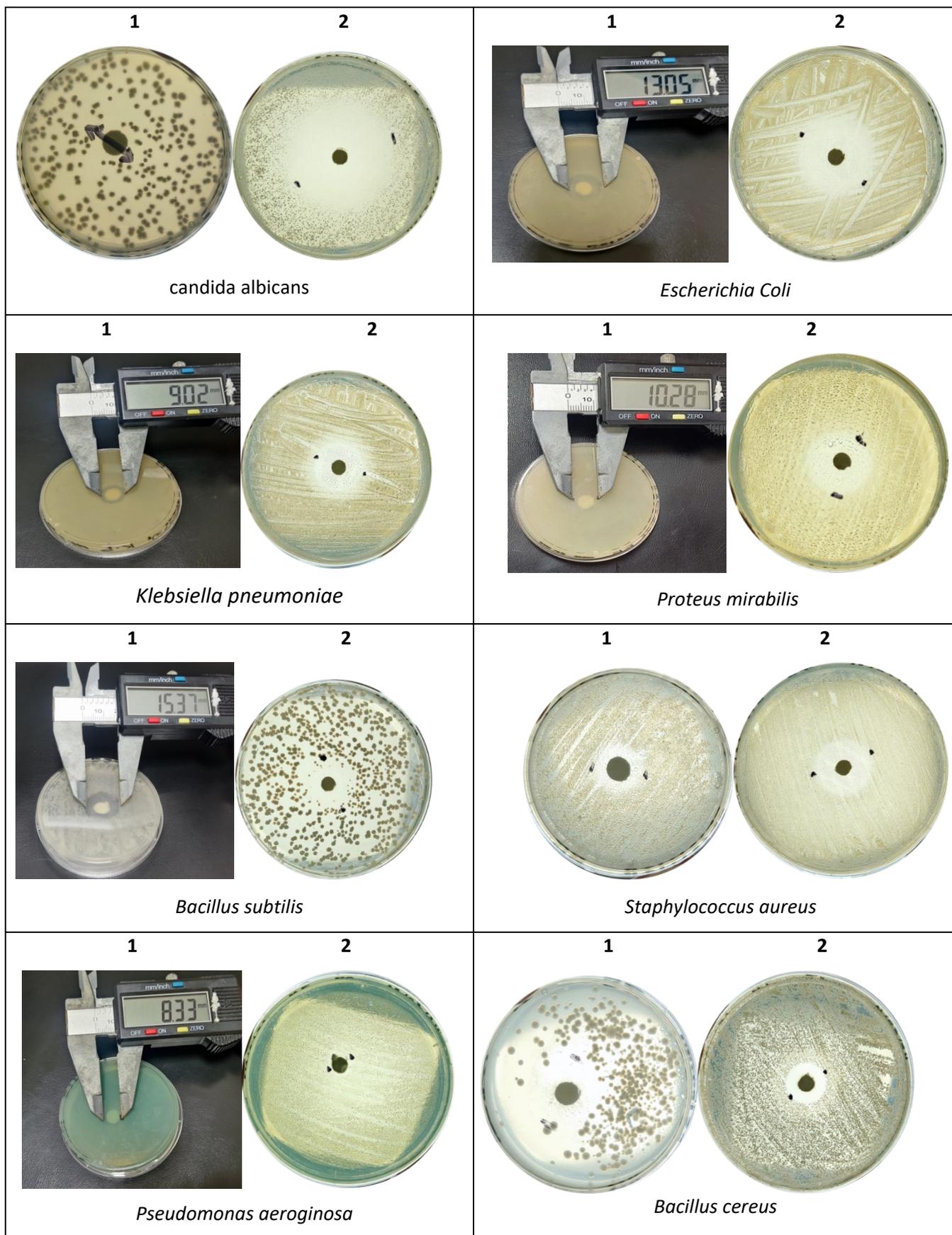


Figure 22 : Zone d’inhibition sous l’effets des huiles essentielles de *Foeniculum vulgare* et *Piper cubeba* sur la croissance des huit souches bactériennes testées. (1- *Foeniculum vulgare* ; 2- *Piper cubeba*)

Par les analyses statistiques (ANOVA), les résultats ont montré une variabilité significative des zones d'inhibition à la fois entre les huiles testées et entre les souches bactériennes. Cette différence est attribuable à la composition chimique de chaque des huiles essentielles de chaque plante et à la nature de la souche bactérienne testée.

Dans cette étude, les bactéries *E. coli*, *P. mirabilis*, *B. subtilis*, *S. aureus* et la levure *C. albicans* se sont montrées plus sensibles aux huiles de *P. cubeba*, tandis que *B. cereus* s'est révélé plus sensible aux huiles de *F. vulgare* avec des zones d'inhibition supérieures à 20 mm. En revanche, la majorité des bactéries ont montré une plus grande résistance aux huiles de *F. vulgare*, telles que *K. pneumoniae*, *C. albicans*, *P. mirabilis*. Quant à la bactérie *P. aeruginosa*, sa résistance aux huiles de *P. cubeba* et *F. vulgare* était inférieure à 12 mm (tableau 14; figure 23)

Tableau 14 : Sensibilité des bactéries aux huiles essentielles du *Feoniculum vulgare* et *Piper cubeba*

Bactérie	Plante	Les zones d'inhibition et groupement
<i>C. albicans</i>	<i>P. cubeba</i>	44,1667 ^a ± 4,4
<i>E. coli</i>	<i>P. cubeba</i>	32,5000 ^b ± 1
<i>P. mirabilis</i>	<i>P. cubeba</i>	26,6667 ^{bc} ± 1,11
<i>B. subtilis</i>	<i>P. cubeba</i>	25,8333 ^{bc} ± 2,77
<i>B. cereus</i>	<i>F. vulgare</i>	24,7017 ^{bcd} ± 7,18
<i>S. aureus</i>	<i>P. cubeba</i>	22,6667 ^{bcd} ± 1,77
<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. cubeba</i>	21,6667 ^{cde} ± 1,11
<i>B. cereus</i>	<i>P. cubeba</i>	16,3333 ^{def} ± 1,11
<i>S. aureus</i>	<i>F. vulgare</i>	15,0100 ^{defg} ± 0,86
<i>E. coli</i>	<i>F. vulgare</i>	13,4033 ^{efg} ± 0,23
<i>B. subtilis</i>	<i>F. vulgare</i>	12,3267 ^{efg} ± 2,02
<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. cubeba</i>	10,3333 ^{fg} ± 0,44
<i>K. pneumoniae</i>	<i>F. vulgare</i>	9,2467 ^{fg} ± 0,38
<i>C. albicans</i>	<i>F. vulgare</i>	8,7617 ^{fg} ± 0,21
<i>P. aeruginosa</i>	<i>F. vulgare</i>	8,3350 ^{fg} ± 0,70
<i>P. mirabilis</i>	<i>F. vulgare</i>	5,7067 ^g ± 3,8

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

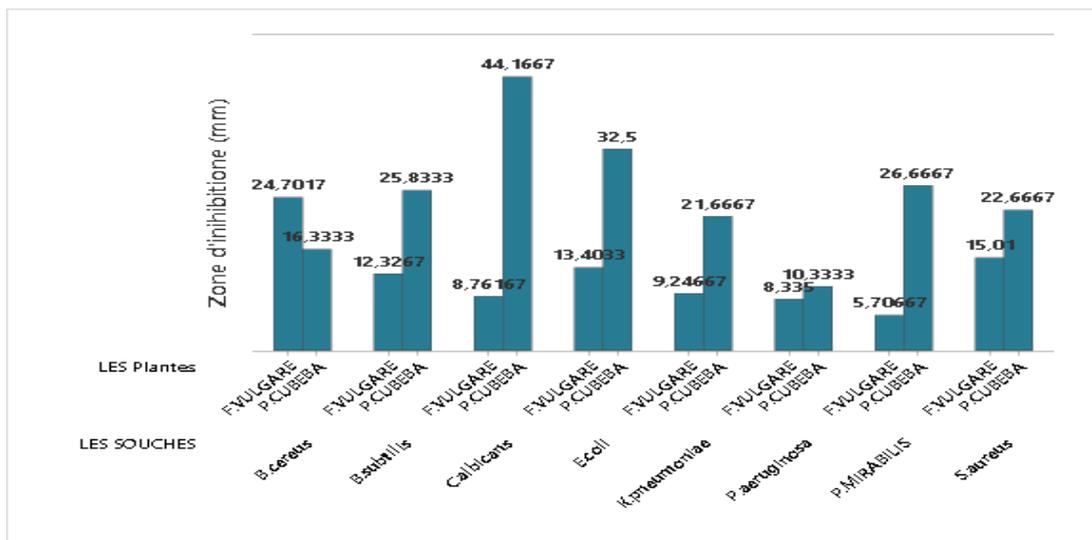


Figure 23: Sensibilité des bactéries aux huiles essentielles du *Feoniculum vulgare* et *Piper cubeba*

Par comparaison entre les deux plantes, une différence significative de leur activité a été observée ($p < 0,05$). Le tableau 15 indique que la plante la plus active est *P. cubeba*

Tableau 15 : Activité antimicrobienne de l’huiles essentielles du *Feoniculum vulgare* et *Piper cubeba*

plante	N	Moyenne	Groupement
<i>P. cubeba</i>	24	25,0208	A
<i>F. vulgare</i>	24	12,1865	B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

6.2. Sensibilité des bactéries à l’extrait aqueux du Fenouil et Cubeba :

La figure 25, montre les résultats obtenus en termes de zones d’inhibition autour des puits. Comme contrôle négatif, le DMSO n’a pas affecté la croissance des souches bactériennes (figure 24).



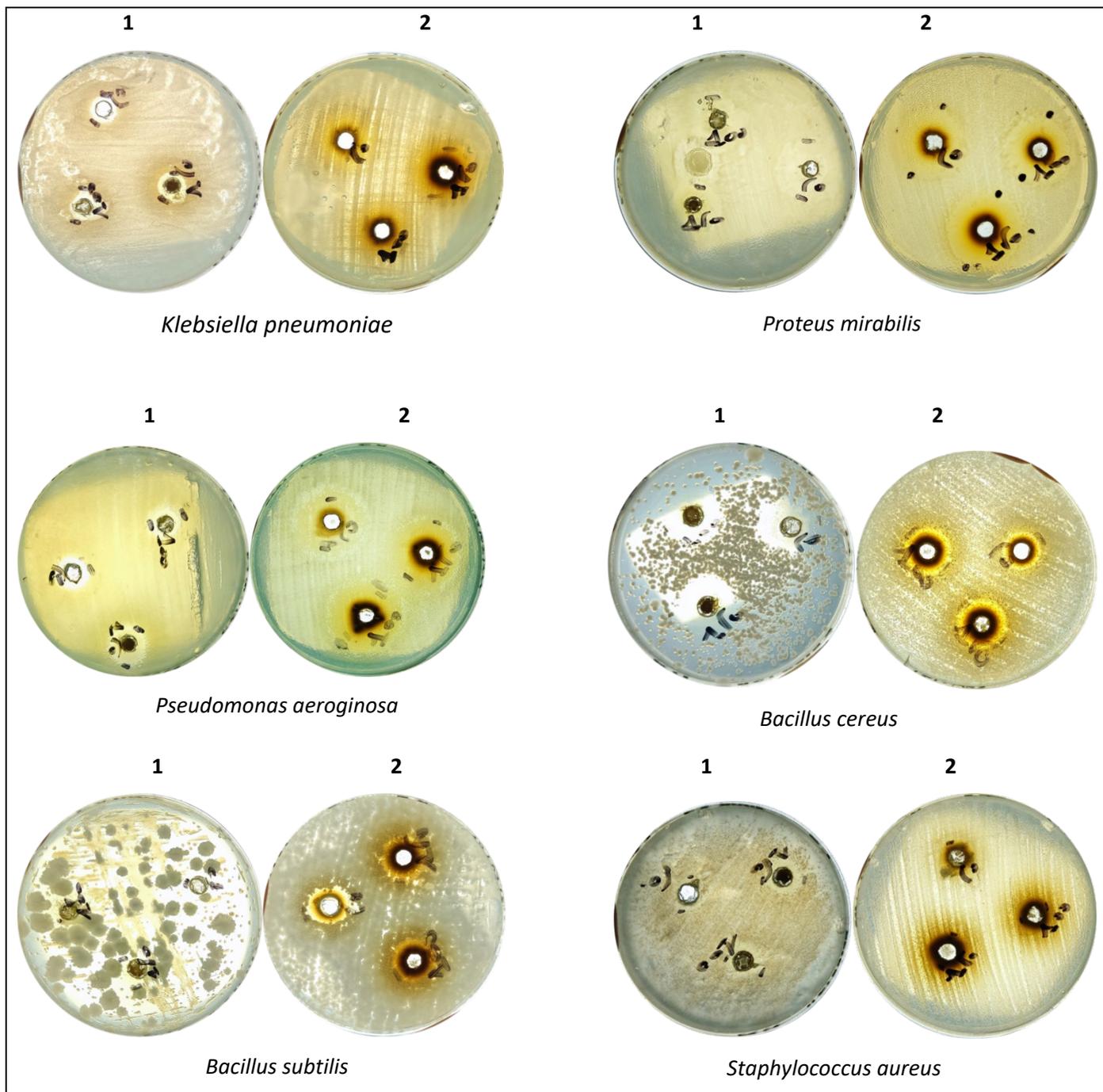


Figure 25 : Effets des extraits de *Foeniculum vulgare* et *Piper cubeba* sur les huit souches bactériennes à différentes concentrations (50,100,150) 1-*Foeniculum vulgare* 2-*Piper cubeba*



Figure 24: Contrôle négatif du DMSO pour les extraits

On constate que toutes les concentrations des deux extraits ont une activité inhibitrice sur les bactéries testées. Il n'y a pas de différence significative entre les effets des concentrations .

En comparant les souches et les plantes (tableau 16), on observe que les bactéries les plus sensibles à *P. cubeba* sont *P. mirabilis* et *P. aeruginosa*, tandis que *B. cereus* est plus sensible à *F. vulgare*. En revanche, les souches les plus résistantes sont *C. albicans*, *K. pneumoniae* et *B. subtilis* contre *F. vulgare*. (tableau 16)

Tableau 16 : Sensibilité des bactéries aux extraits de *Feoniculum vulgare* et de *Piper cubeba* dans différentes concentrations

C	Les souches	Plante	zone d'inhibition et Groupement
150	<i>P.Mirabilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	29,1667 ^a _{±1,11}
50	<i>P.Mirabilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	25,6667 ^{ab} _{±0,88}
100	<i>P.Mirabilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	25,6667 ^{ab} _{±1,29}
150	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.Cubeba</i>	24,3333 ^{abc} _{±2,88}
150	<i>B.cereus</i>	<i>F.Vulgare</i>	20,7067 ^{abcd} _{±1,81}
100	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.Cubeba</i>	20,0000 ^{abcd} _{±2}
150	<i>B.cereus</i>	<i>P.Cubeba</i>	19,0000 ^{abcd} _{±0,66}
100	<i>B.cereus</i>	<i>F.Vulgare</i>	18,8767 ^{abcd} _{±1,81}
50	<i>P.aeruginosa</i>	<i>P.Cubeba</i>	18,0000 ^{abcd} _{±1,33}
50	<i>B.cereus</i>	<i>F.Vulgare</i>	17,6100 ^{abcd} _{±1,61}
100	<i>B.cereus</i>	<i>P.Cubeba</i>	16,0000 ^{abcd} _{±0,66}
150	<i>C.albicans</i>	<i>P.Cubeba</i>	15,6667 ^{abcd} _{±2,88}
150	<i>S.aureus</i>	<i>F.Vulgare</i>	15,5083 ^{abcd} _{±1,1}
100	<i>B.subtilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	15,3333 ^{abcd} _{±10,22}
150	<i>K.pneumoniae</i>	<i>P.Cubeba</i>	15,0000 ^{abcd} _{±3,33}
150	<i>P.MIRABILIS</i>	<i>F.Vulgare</i>	14,5233 ^{abcd} _{±1,29}
100	<i>S.aureus</i>	<i>F.Vulgare</i>	14,4100 ^{abcd} _{±0,23}
100	<i>P.MIRABILIS</i>	<i>F.Vulgare</i>	14,1767 ^{abcd} _{±1,06}
50	<i>P.MIRABILIS</i>	<i>F.Vulgare</i>	13,9133 ^{bcd} _{±0,98}
100	<i>C.albicans</i>	<i>P.Cubeba</i>	13,6667 ^{bcd} _{±0,44}
150	<i>S.aureus</i>	<i>P.Cubeba</i>	13,3333 ^{bcd} _{±1,11}
100	<i>E.coli</i>	<i>P.Cubeba</i>	13,3333 ^{bcd} _{±1,11}
50	<i>B.subtilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	13,3333 ^{bcd} _{±8,88}
50	<i>S.aureus</i>	<i>F.Vulgare</i>	12,6700 ^{bcd} _{±0,46}
100	<i>K.pneumoniae</i>	<i>P.Cubeba</i>	12,6667 ^{bcd} _{±1,77}
50	<i>S.aureus</i>	<i>P.Cubeba</i>	12,0000 ^{bcd} _{±1,33}
150	<i>E.coli</i>	<i>P.Cubeba</i>	12,0000 ^{bcd} _{±2}
150	<i>B.subtilis</i>	<i>P.Cubeba</i>	12,0000 ^{bcd} _{±9,33}
150	<i>E.coli</i>	<i>F.Vulgare</i>	11,7400 ^{bc} _{±0,38}
100	<i>S.aureus</i>	<i>P.Cubeba</i>	11,6667 ^{bcd} _{±0,88}
50	<i>E.coli</i>	<i>P.Cubeba</i>	11,3333 ^{bcd} _{±1,77}

50	<i>P.aeruginosa</i>	<i>F.Vulgare</i>	10,5633 ^{cd} _{±1,39}
150	<i>P.aeruginosa</i>	<i>F.Vulgare</i>	10,5467 ^{cd} _{±1,55}
100	<i>K.pneumoniae</i>	<i>F.Vulgare</i>	10,3500 ^{cd} _{±0,36}
100	<i>E.coli</i>	<i>F.Vulgare</i>	10,2933 ^{cd} _{±1,45}
150	<i>C.albicans</i>	<i>F.Vulgare</i>	10,0300 ^{cd} _{±0,56}
50	<i>B.subtilis</i>	<i>F.Vulgare</i>	9,9767 ^{cd} _{±1,29}
50	<i>E.coli</i>	<i>F.Vulgare</i>	9,8933 ^{cd} _{±1,4}
100	<i>C.albicans</i>	<i>F.Vulgare</i>	9,6733 ^{cd} _{±0,12}
50	<i>C.albicans</i>	<i>F.Vulgare</i>	9,5833 ^{cd} _{±0,68}
50	<i>K.pneumoniae</i>	<i>F.Vulgare</i>	9,4767 ^{cd} _{±3,59}
100	<i>P.aeruginosa</i>	<i>F.vulgare</i>	9,2733 ^{cd} _{±2,18}
50	<i>K.pneumoniae</i>	<i>P.cubeba</i>	9,0000 ^d _{±6}
150	<i>K.pneumoniae</i>	<i>F.vulgare</i>	8,5867 ^d _{±1,04}
100	<i>B.subtilis</i>	<i>F.vulgare</i>	8,4067 ^d _{±5,6}
50	<i>C.albicans</i>	<i>P.cubeba</i>	8,3333 ^d _{±5,55}
50	<i>B.cereus</i>	<i>P.cubeba</i>	8,3333 ^d _{±5,55}
150	<i>B.subtilis</i>	<i>F.vulgare</i>	6,4100 ^d _{±4,27}

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes. . C = Concentration

Par comparaison entre les extraits des deux plantes, une différence significative de leur activité a été observée ($p < 0,05$). Le tableau (17) et le figure (26) indique que l'extrait le plus actif est celui de *P. cubeba*.

Tableau 17 : Moyenne des extraits du *Feoniculum vulgare* et *Piper cubeba*

Plantes	N	Moyenne	Groupement
<i>P. cubeba</i>	72	15,6181	A
<i>F. vulgare</i>	72	11,9666	B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

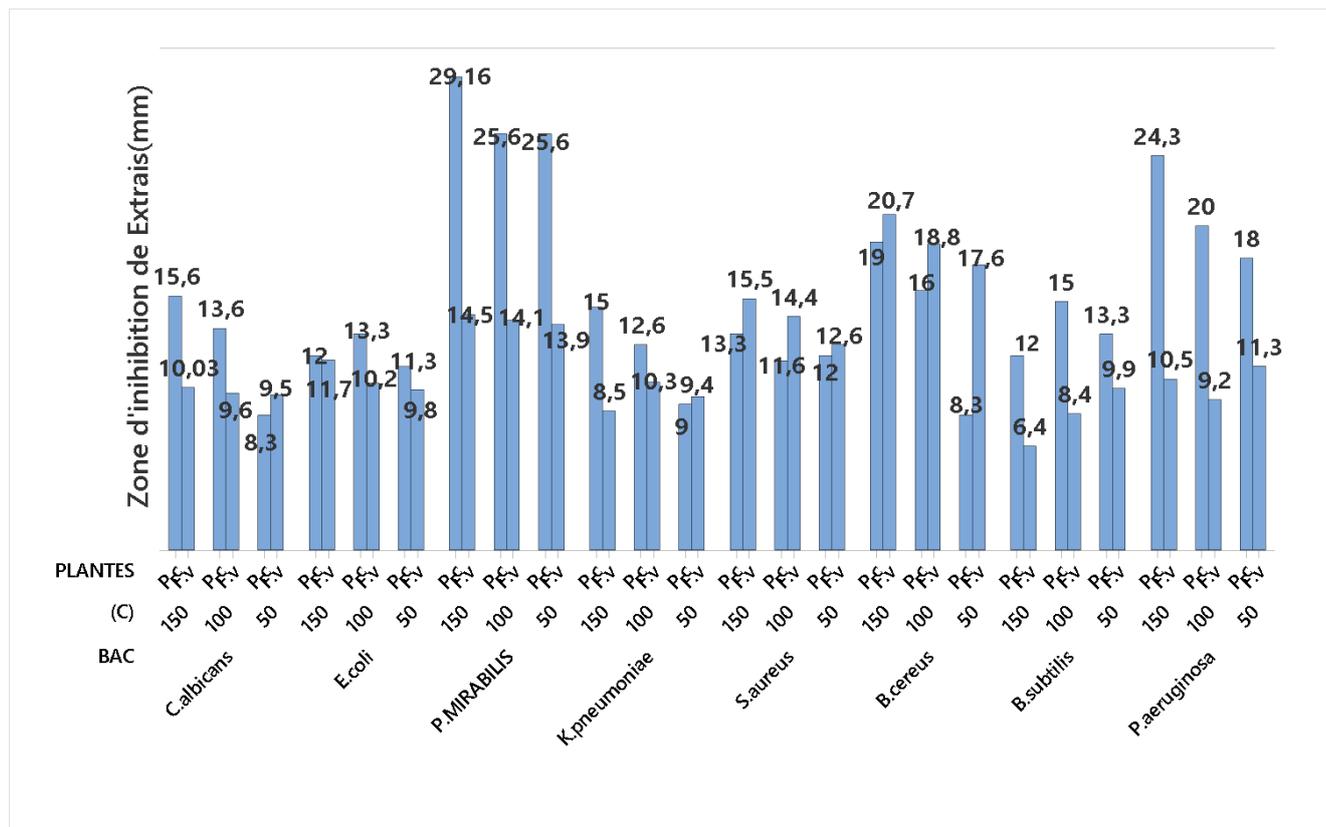


Figure 26: Sensibilité des bactéries aux extraits de trois concentrations (50, 100, 150) de *Foeniculum vulgare* et *Piper cubeba*

6.3. Détermination des CMI et CMB pour des huiles essentielles :

La CMB a été déterminée en comparant la croissance bactérienne des boîtes de CMI et du témoin (Annexe). Ainsi, la plus petite concentration du puit qui présente moins de 0,01% de bactéries viables par rapport à l'inoculum initial est considérée comme la CMB. Le rapport CMB/CMI permet de préciser la modalité d'action de la substance (Fauchere, 2002).

Selon Kamanzi (2002), l'extrait ou l'huile est considéré comme bactéricide lorsque sa CMB est égale à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 4. Il est dit bactériostatique lorsque sa CMB est supérieure à sa CMI ou si le rapport CMB/CMI est supérieur à 4. Lorsque ce rapport est égal à 32, la souche est dite tolérante.

Les valeurs de CMI et CMB des huiles essentielles extraite des graines de *Fenouil* et de *Cubeba* sont déterminées par la méthode de la microplaque et sont présentées dans le tableau (18) :

Tableau 18: Les valeurs de CMI et CMB de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba*

Les Souches	<i>F.vulgar</i>				<i>P.cubeba</i>			
	CMI %	CMB %	CMB/CMI %	Pouvoir	CMI %	CMB %	CMB/CMI %	Pouvoir
<i>E.coli</i>	1,25	1,25	1	Bactéricide	0,0032	0,078	24,3	bactériostatique
<i>P.mirabilis</i>	1,25	3,125	2,5	Bactéricide	0,15	0,15	1	bactéricide
<i>K.pneumoniae</i>	1,25	7,5	6	bactériostatique	0,0032	0,013	4	bactéricide
<i>S.aureus</i>	5	5	1	Bactéricide	0,002	0,0032	1,5	Bactéricide
<i>B.ereus</i>	5	5	1	Bactéricide	0,002	0,002	1	Bactéricide
<i>B.subtilis</i>	5	7,5	1,5	Bactéricide	2,50	10	3,9	Bactéricide
<i>P.aeruginosa</i>	1,25	7,5	6	bactériostatique	0,31	0,78	2,5	Bactéricide
<i>C.albicans</i>	Pas de coloration par TTC			/	Pas de coloration par TTC			/

La plus petite concentration de CMI est de 0,002 % pour *P. cubeba* contre *S. aureus* et *B. cereus*, ce qui indique une forte activité. En revanche, pour les huiles de *F. vulgare*, la plus petite concentration de CMI est de 1,25 % contre *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*. Pour les CMB, la concentration la plus faible est de 0,002 % contre *B. cereus* pour *P. cubeba* et de 1,25 % contre *E. coli* pour *F. vulgare* (tableau 18)

La détermination des CMB a montré que les huiles des deux plantes étudiées ont un effet bactéricide sur toutes les bactéries, à l'exception d'*E. coli* pour les huiles de *P. cubeba* et de *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* pour l'huile de *F. vulgare*, où l'effet est bactériostatique

Par les analyses statistiques, les plantes présentent une différence significative ($p < 0,05$). (tableau 19), Les bactéries montrent une résistance aux huiles de *F. vulgare*, tandis que l'huile de *P. cubeba* présente un effet bactéricide plus marqué, ce qui est intéressant.

Tableau 19 : Les analyses statistiques des CMB des huiles essentielles de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba* ont été réalisées.

Plante	N	Moyenne	Groupement
<i>F.vulgare</i>	14	5,26786	A
<i>P.cubeba</i>	14	1,57612	B

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

6.4. Détermination de CMI et CMB Pour les extraits :

La détermination des CMI des extraits aqueuse mis en évidence des niveaux d'action variables .L'effet inhibiteur des extraits des deux plantes. (tableau20)

Tableau 20 : Les valeurs de CMI et CMB de l'extraits de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba*

Les Souches	<i>F.vulgare</i>				<i>P.cubeba</i>			
	CMI mg/ML	CMB Mg/ml	CMB/CMI Mg/ml	Pouvoir	CMI Mg/ml	CMB Mg/ml	CMB/CMI Mg/ml	pouvoir
E.coli	1,5	6,25	4,1	Bactériostatique	0,9375	6,25	6,6	Bactériostatique
P.mirabilis	1,5	6,25	4,1	Bactériostatique	0,9375	15,6	16,6	Bactériostatique
K.pneumoniae	6,25	25	4	Bactéricide	1,5	15,6	10,4	Bactériostatique
S.aureus	0,375	6,25	16,6	Bactériostatique	0,375	3,8	10,3	Bactériostatique
B.cereus	1,5	1,5	1	Bactéricide	0,375	25	66,6	tolérante.
B.Ssbtilis	6,25	100	16>	Bactériostatique	6,25	100>	16>	Bactériostatique
P.aeruginosa	1,5	6,25	4,1	Bactériostatique	1,5	15,6	10,4	Bactériostatique
C .albicans	Pas de colorations par TTC			/	Pas de colorations par TTC			/

La concentration la plus faible est de 0,357 mg/ml contre *S. aureus* pour les deux extraits et contre *B. cereus* pour l'extrait de *P. cubeba*. Pour les CMB, la concentration la plus faible est de 1,5 mg/ml contre *B. cereus* pour l'extrait de *F. vulgare* et de 3,8 mg/ml contre *S. aureus* pour l'extrait de *P. cubeba* (*P. cubeba* est la plus bactériostatique).

Les analyses statistiques révèlent que les valeurs de CMI sont significativement différentes ($p < 0,05$). *P. cubeba* est plus inhibitrice (tableau21)

Tableau 21 : Les analyses statistiques des CMB des extraits de *Foeniculum vulgare* et de *Piper cubeba* ont été réalisées.

Plante	N	Moyenne	Groupement
<i>P.cubeba</i>	14	12,6071	A
<i>F.vulgare</i>	14	8,2500	A

Les moyennes ne partageant aucune lettre sont significativement différentes.

Le tableau 35 indique que les deux extraits possède un effet bactérostatique.

La méthode de diffusion des disques nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle des graines du fenouil et du Cubebe vis-à-vis des bactéries et des levures testées. Selon la classification de **Ponce et al. (2003)**, le *Piper cubeba* est plus actif contre sept souches de bactéries et de levures, y compris le *Candida albicans*. Cependant, l'huile de fenouil (*F. vulgare*) présente une activité supérieure à celle du *P.cubeba* contre la bactérie *Bacillus cereus*. La bactérie la plus résistante aux deux huiles est *Pseudomonas aeruginosa* (8 mm) contre l'huile de fenouil et (10 mm) contre l'huile de *P.cubeba*.

Dans la présente étude, les bactéries à Gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*) se sont avérées les plus résistantes. Ce constat peut être dû à l'action de certains composés volatils de l'huile essentielle étudiée d'une part et à la présence d'une couche de lipopolysaccharide (LPS) chez les bactéries G- qui pourrait fonctionner comme barrière efficace contre n'importe quelle biomolécule entrant d'autre part (**Inouye et al., 2001; Bagamboula et al., 2004 ; Upadhyay et al., 2010**).

Nos résultats sont confirmés par de nombreuses études (**Lopez et al., 2005 ; Bozin et al., 2006 ; Bouzouita et al., 2008**) qui ont montré que les bactéries Gram négatives sont plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries Gram positives.

E. coli ATCC 25922 s'est avérée la plus sensible par la méthode de dilution, malgré le fait qu'elle soit Gram négatif. Il est postulé que les différents composants des huiles essentielles montrent différents degrés d'activité contre des bactéries Gram négatives et positives (**Dorman et Deans, 2000**) et que la composition chimique des huiles essentielles peut varier selon plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques (**Lahlou, 2004**).

Les huiles essentielles de *F. vulgare* avait des activités antimicrobiennes contre certains des microorganismes. Les diamètres de la zone d'inhibition de la croissance variaient de 14 à 31 mm (y compris le diamètre du disque de 6 mm), avec les valeurs les plus élevées de zone d'inhibition observées contre *Bacillus megaterium* (31 mm) et *Bacillus subtilis* (29 mm) (**Roby et al., 2013**).

Les huiles essentielles de *F. vulgare* ont montré une action antifongique contre *Candida albicans*. Cette découverte a ouvert la voie à des recherches sur de nouveaux agents antifongiques pour le traitement de la candidose et d'autres maladies fongiques (**Park et Seong, 2001**).

Salkar et al. (2014) ont développé un gel oral à base d'huile essentielle de *P. cubeba* (0,5 %) et ont testé son activité contre différentes souches de *Candida*, montrant un effet inhibiteur comparable à celui des gels à base de plantes locaux commercialisés. Les fruits de *P. cubeba* sont considérés comme des traitements prometteurs contre les infections fongiques buccales, en particulier les espèces de *C. albicans*.

Piper cubeba présente une activité antimicrobienne efficace contre une sélection de bactéries Gram positive et négative ainsi que contre les champignons. Ces effets peuvent être attribués à la présence des huiles essentielles et de lignanes spécialement le (-)-cubébénil et le (-)-hinokinin (**Ekta et Sita, 2012 ; Al-Tememy, 2013**).

L'huile essentielle de *P. cubeba* endommage les protéines ancrées dans la paroi cellulaire impliquées dans la formation et l'adhésion du biofilm. Cela pourrait également endommager la membrane cytoplasmique (Alharbi *et al.*, 2017).

Cette différence d'efficacité est liée à la composition chimique de chaque huile et à la nature de la souche bactérienne testée (Ait, 2018).

Les résultats obtenus confirment une fois de plus l'efficacité des extraits des plantes et leur pouvoir antimicrobien. L'efficacité du Fenouil et Cubebe contre les germes testés concorde avec la littérature.

L'extrait le plus efficace dans la méthode de puits d'agar (Badole et Bodhankar, 2010 ; Alsarhan *et al.*, 2013) est le *Piper cubeba*, qui montre une activité intéressante contre les bactéries et les levures, à l'exception de *P. aeruginosa* et *P. mirabilis*. Pour le Fenouil, il possède une efficacité supérieure à celle du *Piper cubeba* contre deux bactéries, *B. cereus* et *S. aureus*.

La destruction de ces bactéries (Sari, 2012) est notable. *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie sensible aux composés métabolites secondaires (antibactériens), à partir desquels sont formées les parois cellulaires de *Pseudomonas aeruginosa* complexe, ce qui facilite la pénétration de ces composés dans les bactéries. Cela est cohérent avec les recherches de Septiani (2017).

Selon Jawetz (Jawetz, 2010), les composés flavonoïdes inhibent la croissance des bactéries à Gram négatif, notamment *Pseudomonas aeruginosa*, qui est polaire (hydrophile), permettant ainsi une pénétration facile à travers la couche de peptidoglycane de la paroi cellulaire. Les parois cellulaires des bactéries à Gram positif sont constituées de polysaccharides sous forme d'acide teichoïque, qui ont la fonction de transfert d'ions positifs (Febiyanto, 2018). Le processus d'inhibition par des composés métabolites secondaires peut interférer avec le fonctionnement de la paroi cellulaire de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*.

Un extrait aqueux de graines de *F. vulgare* a inhibé la croissance d'*Enterococcus faecalis*, de *Staphylococcus aureus*, d'*Escherichia coli*, de *Klebsiella pneumoniae*, de *Pseudomonas aeruginosa*, de *Salmonella typhi*, de *Salmonella typhimurium*, de *Shigella flexneri* et de *Bacillus cereus* avec des zones d'inhibition allant de 13 à 22, 22 à 24, 14 à 24, 20 à 21, 21 à 24, 11 à 12, 14 à 18, 17 à 18 et 24 à 26 mm, respectivement (Gulfraz *et al.*, 2008 ; Kaur et Arora, 2009 ; Manonmani et Abdul Khadir, 2011).

Extraits et composés de parties de *P. cubeba*, principalement des fruits, ont été largement évalués pour leur activité antimicrobienne. En utilisant cinq extraits (acétone, hexane, méthanol, éthanol et aqueux) de fruits de *P. cubeba*, Akshita *et al.* (2020) ont constaté que tous les extraits ont montré une activité antibactérienne élevée à modérée contre *Klebsiella* sp., *Staphylococcus*

aureus, *Escherichia coli*, *Enterococcus* sp., *Enterobacter* sp. et *Pseudomonas aeruginosa*, sauf l'extrait d'hexane qui n'a présenté aucune activité. Les meilleurs effets ont été observés vis-à-vis d'*Enterococcus* sp., suivi de *E. coli* et *P. aeruginosa*.

Les extraits de *P. cubeba* attaquent et détruisent le peptidoglycane provoquant l'effondrement cellulaire (**Ozturk et al., 2014**).

Nahak et Sahu (2011) ont signalé que les extraits des espèces de genre *Piper* renferment des métabolites secondaires biologiquement actifs regroupant les polyphénols, les alcaloïdes, les tannins, les flavonoïdes, les lignanes et les néolignanes. Cette diversité de composés explique le haut pouvoir antibactérien des épices étudiés.

Les métabolites secondaires contenus dans les plantes pourrait agir aux différents niveaux telles que l'inhibition des enzymes microbiennes extracellulaires, la séquestration des substrats nécessaires à la croissance microbienne, la chélation de métaux comme le fer (**Faleiro, 2011**), la perturbation de la membrane cytoplasmique causant une fuite des composants cellulaires, l'influence de la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines, et des lipides (**Guinoiseau, 2010 ; Annou, 2017**).

La forte teneur en composés phénoliques dans les extraits de parties aériennes pourrait expliquer les bioactivités observées. Ces composés sont connus comme les substances les plus dynamiques et sont responsables des propriétés biologiques d'un large éventail d'espèces végétales. Actuellement, les herbes médicinales et leurs substances phénoliques sont devenues une alternative efficace avec des effets toxiques particulièrement faibles pour le contrôle biologique des agents pathogènes (**Dbeibia et al., 2021**).

Les différentes valeurs de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) obtenues indiquent que l'activité antibactérienne varie en fonction de la bactérie, ce qui confirme que le type de microorganisme est un paramètre important déterminant l'activité antibactérienne. Nos résultats concordent avec ceux de plusieurs auteurs, notamment **Friedman et al., (2002)**, **Lo Cantore et al., (2004)** et **Ağaoğlu et al., (2007)**, qui ont observé une activité antibactérienne faible. Cependant, ils diffèrent des résultats de **Singh et al., (2002)**, **Ozkan et al., (2003)**, et **Dadalioglu et Evrendilek (2004)**, qui ont constaté une activité significative contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

Dans une étude récente sur *P. cubeba* et ses fractions, les deux composés ont montré une inhibition de la croissance de *B. pumilus* ATCC14884, *B. cereus* ATCC33019, *B. megaterium* ATCC14581 et *B. subtilis* ATCC6633 (CMI = 63,0–125,0 mg/mL) et ont inactivé plus de 90,99 % des spores de *Bacillus* à 0,05 %. Plus important encore, les composés ont détruit toutes les spores à 0,1 % après 1 h d'incubation (**Alqadeeri et al., 2019**).

Dans notre étude, nous avons observé que les huiles de *P. cubeba* et de *F. vulgare* ont des effets bactéricides sur la majorité des bactéries, tandis que l'extrait de *P. cubeba* est bactériostatique vis-à-vis de toutes les bactéries testées et que l'extrait de *F. vulgare* est majoritairement bactériostatique. Cela peut être attribué aux différences de composition entre les huiles et les extraits, ce qui impacte les constituants présents.

Les interactions entre les agents émulsifiants et les dissolvants, tels que le DMSO, et les constituants des huiles essentielles représentent un facteur crucial dans la mesure de leur activité antimicrobienne, car elles peuvent potentiellement diminuer cette activité

Dans les cellules vivantes, le TTC (Triphényl Tétrazolium Chloride) est réduit en (formazan) par les déshydrogénases présentes dans les mitochondries, un processus lié à la respiration cellulaire. Les microorganismes vivants métabolisent le TTC en formazan, indiquant ainsi leur présence et leur activité. **(Quaresma et al., 2024)**

Contrairement à d'autres micro-organismes, *Candida albicans* possède des mécanismes de respiration alternatifs qui ne font pas intervenir les déshydrogénases mitochondriales. Ces enzymes sont essentielles à la réduction du TTC en formazan, le composé rouge insoluble qui colore les cellules viables. *Candida albicans* peut également métaboliser le TTC par d'autres voies, produisant des composés non colorés. **(Vandeputte, 2008)**

Conclusion & Perspectives

Conclusion et Perspectives :

L'étude que nous avons menée a révélé que les huiles et les extraits des graines de cubèbe (*Piper cubeba*) et de fenouil (*Foeniculum vulgare*) possèdent des propriétés antioxydantes et antibactériennes significatives. Grâce à l'utilisation de diverses méthodes d'extraction et d'évaluation biologique, nous avons pu démontrer que les deux plantes présentent une efficacité notable dans la neutralisation des radicaux libres et dans l'inhibition de la croissance bactérienne. Cependant, le cubebe s'est révélé être particulièrement plus actif que le fenouil. Les tests de piégeage des radicaux libres DPPH ont montré que les huiles et les extraits de cubebe possèdent une capacité antioxydante beaucoup plus élevée, avec des valeurs IC50 nettement inférieures à celles du fenouil. De plus, les essais de diffusion sur disque et de diffusion en puits ont indiqué que le cubebe possède une activité antibactérienne plus prononcée, surtout contre *Candida albicans*, *Escherichia coli* et *Proteus mirabilis*, alors que le Fenouil a montré une meilleure inhibition contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

Ces différences d'activité peuvent être attribuées à la composition chimique distincte des deux plantes. Le cubebe contient une concentration plus élevée des composés polyphénols et de flavonoïdes, connus pour leurs puissantes propriétés antioxydantes et antimicrobiennes. Les composés spécifiques présents dans le cubebe, tels que le cubèbine, pourraient expliquer sa plus grande efficacité.

Les perspectives futures de cette étude incluent la poursuite de la recherche sur les composés bioactifs spécifiques présents dans le cubèbe, afin de mieux comprendre leurs mécanismes d'action et d'explorer leur potentiel thérapeutique. Des essais cliniques sont nécessaires pour évaluer l'efficacité et la sécurité des extraits dans des applications médicales réelles. L'exploration de l'incorporation des huiles et extraits de Cubebe dans divers produits pharmaceutiques, cosmétiques et nutraceutiques offre également des opportunités de développement. Des études mécanistiques sont nécessaires pour comprendre les interactions moléculaires des composés bioactifs.

Cette étude ouvre des perspectives prometteuses pour l'utilisation des graines de cubebe et de fenouil dans divers domaines, en particulier grâce à la puissance des propriétés bioactives du cubèbe. Les recherches futures devraient se concentrer sur la maximisation de ces bénéfices tout en assurant la sécurité et la durabilité des applications proposées.

Références bibliographiques

A

- A. H. Shah, S. Qureshi, and A. M. Ageel. , 1991. Toxicity studies in mice of ethanol extracts of *Foeniculum vulgare* fruit and *Ruta chalepensis* aerial parts, *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 34, no. 2-3, pp. 167–172
- A. Ozturk, M. S. El-Shattawy, S. I. Abdel-Kareem, and M. S. Al-Asmari , 2014. *In vitro* antibacterial activity of *Pleurotus cubeba* (L.) fruiting bodies extracts against multidrug-resistant bacteria , 8(40) : 4983-4991 .
- Abdelmalek A., lezzar A. , 2016. Les bactéries du groupe *Klebsiella*, entérobactérie 8-, *Serratia* responsables des bactériémies au CHU de Constantine et leurs profils de résistances aux antibiotiques. Mémoire de master, université des frères mentouri, ALgérie, p32.
- Abdesselam Z. , 2006 , Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutra News.*, pp. 6-16.
- Abdul-Jalil TZ, Nasser ZA. , 2016. *Piper cubeba*: phytochemical and pharmacological review of a routinely used spices. *Int J Pharmaceut Res.* (2020) 1:761–8.
- Adouane S , 2016. En vue de l'obtention du diplôme de magistère en sciences agronomiques, option Agriculture et environnement en régions arides, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région méridionale des Aurès, Université Mohamed Khider – Biskra, p14, 10.
- AFNOR , 1986. Association Française de Normalisation, Recueil de Normes Française « huile essentielles ». Paris.
- Afnor, 1986. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », Afnor. Paris. 57 p.
- Afnor, 1996. Huiles essentielles. Volume 1 : échantillonnage et méthodes d'analyse. Afnor, Paris, 440 p.
- Ağaoğlu S., Dostbil N. and Alemdar S., 2007. Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy* 51, pp.53-57.
- Ahmad, W., Hasan, A., Abdullah, A., Tarannum, T., & Zeenat, F. , 2012. An appraisal of Medicinal properties of Kabab Chini (*Piper cubeba*). *Unimed Kulliyal*, 2, 13-18.
- Ahmed A, Ahmed QU, Saxena AK et Jamal P. , 2017. Evaluation of *in vitro* antidiabetic and antioxidant characterizations of *Elettaria cardamomum* L. Maton (Zingiberaceae), *Piper cubeba* L. f. (Piperaceae), and *Plumeria rubra* L. (Apocynaceae). *Pak. J. Pharm. Sci.*; 30(1):113-126.
- Aiche – Iratni Ghenima , 2016. Activités Biologiques, d'intérêt médical, d'extraits de feuilles de *Pistacia lentiscus* et d'*Organum majorana*, These Doct, Université Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, p80.
- Ait M'hammed, B, EL-AKHAL F, Ouedrhiri W, 2018. Composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du centre nord marocain : *Thymus vulgaris* et *Thymus satureioides* , 14p .
- Akshita C, Vijay BV, Praveen D. , 2020. Evaluation of phytochemical screening and antimicrobial efficacy of *Mesua ferrea* and *Piper cubeba* fruit extracts against multidrug-resistant bacteria. *Pharmacophore* 11:15–20.
- Alam A , Ahmed S , Husain S, Bano H, Ahmed Z and Abdul Azeez. , 2013. Kabab Chini (*Piper cubeba*) and its healing corollary in Unani medicine: An overview. *Am. J. Pharm Health Res.*; 1(6):1-9.
- Alexandra M , 2020. Les huiles essentielles antibactériennes : exemple du thym (*Thymus vulgaris*). Sciences pharmaceutiques. 118p .
- Alharbi NS, Khaled JM, Alzaharni KE, Mothana RA, Alsaid MS, Alhoshan M , 2017. Effects of *Piper cubeba* L. Essential oil on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an AFM and TEM study. *J Mol Recogn.* 30:2564.
- Al-Iraqi RA and Abdulla HI. , 2012. The biology of flour rust red beetle on some spices. *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences* , 43(3): 106-112.
- Alqadeeri F, Rukayadi Y, Abbas F, Shaari K. 2019 Antibacterial and antisporic activities of isolated compounds from *Piper cubeba* L. *Molecules* , 24:3095.

- Alsarhan A, Mansi K, Aburjai T, Al-Khatib A, Alzweiri M, Sultana N , 2013 , Hsp70 and inos Biomarkers in evaluating proprieties of *Rubia tinctorum*. European Scientific Journal 9 (15):241-254
- Al-Tememy TMK. , 2013. Antibacterial activity of *Piper cubeba* L. fruit extracts against selected bacterial pathogens in Basrah city. Bas.J.Vet.Res , 12(1): 142-151.
- Amar nacer, 2009. Sesquiterpènes lactones et flavonoïdes extraits de deux plantes algériennes de la famille des *Astéracées*.Thèse de doctorat, university Mantouri Constantine.
- Amarti, F., Satrani, B., Ghanmi, M., Farah, A., Aafi, A., & Lyoussi, B. , 2010. Antimicrobial activity of essential oil of *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. and *Thymus ciliatus* (Desf) Benth. from Morocco. African Journal of Biotechnology, 9(31), 4923-4927.
- Amimar, S., Messaoudi, M., & Senhaji, A. , 2001 , Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. from Algeria. Journal of Ethnopharmacology, 79(3), 267-271.
- Annou G. , 2017. Activités biologique des épices constitutive d'un mélange "Ras-el hanout" utilisé par les habitants de Ouargla. Thèse de Doctorat, Universeté Kasdi Merbah Ouargla, 161p
- AOAC , 2000. Official Methods of analysis (13th edn). Association of official Analytical chemist: Washington, D C.
- Aouadhi S , 2010. Atlas des risques de la phytothérapie rationnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes , Faculté de médecine de Tunis - Master spécialisé en toxicologie. 67p .
- Ardestani, A. and Yazdanparast, R. , 2007. Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Achillea santolina* Extracts. Food Chemistry, 104, 21-29.
- Ayan M., Kuzucu C., Durmaz R., Aktas E et Cizmeci Z. , 2003. Analysis of three outbreaks due to *Klebsiella* species in a neonatal intensive care unit. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 24: 495-50.

B

- B. Drissi, I. Mahdi, M. Yassir, W. Ben Bakrim, L. Bouissane and M. Sobeh, 2022. Cubeb (*Piper cubeba* L.): A comprehensive review of its botany, phytochemistry, traditional uses, and pharmacological properties. Front. Nutr., 9 : 1 -25
- Badgujar, S. B., Patel V.V., 2014. *Foeniculum vulgare* Mill: a review of its botany, phytochemistry, pharmacology, contemporary application, and toxicology, 15p.
- Badole SL, Bodhankar SL , 2010., Antidiabetic activity of cycloart-23-ene-3 β , 25-diol (B2) isolated from *Pongamia pinnata* L. in streptozotocinâ nicotinamide induced diabetic mice. European Journal of Pharmacology 632:103-109
- Baerwolf S, Geffers C, Behnke M. , 2002. Correlation between transmissions and the nosocomial infection rate in five different intensive care units in a German university hospital , 10p.
- Bagamboula C.F., Uyttendaele M. and Debevere J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basilessential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology 21: pp. 33-42.
- Bakchiche B., Gherib A., Smail A., Cutodia G et Graca M. , 2013 , Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. Industrial Crops and Products, 46 : 85-96.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008, Biological effects of essential oils – A review, Food and chemical toxicology, 46 : 446-475
- Balière, C., 2016. Les *Escherichia Coli* potentiellement pathogènes dans l'environnement littoral. Université de Bretagne Occidentale, p 178.
- Bandoniene, D., Pukalskas, A., Venskutonis, P.R. et Gruzdiene, D., 2000, Preliminary screening of antioxidant activity of some plant extracts in rapeseed oil. Food Research International, 33, 785-791.
- Baser K.H.C. and Buchbauer G., 2010. Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America. 994p.
- Belyagoubi N., et Benhammou N. , 2011, Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse de doctorat université Aboubakr Belkaïd. Tlemcen. p 12

- Benabed Khadidja Houda , 2018 ,Composition chimique et activité antioxydante des huiles essentielles et extraits phénoliques de deux espèces de la famille des Lamiaceae , universite Kasdi Merbah- Ouargla- ,84p
 - Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune M. A., Bendahou M., 2013 , Phytochemical screening and *in vitro* antimicrobial activity of *Thymus lanceolatus* Desf. from Algeria, Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 3(6): 454-459.
 - Benkhniq, O., Zidane, L., Fadli, M., Elyacoubi, H., Rochdi, A., Douira1, A. , 2011, Etude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Mechraâ Bel Ksiri (Région du Gharb du Maroc). Acta Bot. Barc., Vol. 53, pp.191-216
 - Bernard T., Perinau F., Brav O., Delmas M. et Gaset A., 1988, Extraction des huiles essentielles. Chimie et technologie. Information chimie, France , Num 298, pp 179-184
 - Beylier-Maurel M.F., 1976 , Activité bactériostatique des matières premières de parfumerie. Rivista Italiana. E.P.P.O.S., 58: pp. 283-286.
 - Blois, M. , 1958 , Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Nature, 181, 1199–1200
 - Bothi R , Afidah A. R , Qureshi A. K , Awang K , 2014 , «Green synthesis of silver nanoparticles using tannins , Mater. Sci.-Pol., vol. 32, no 3, p. 408–413,
 - Boubekri C. , 2014 , Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider, Biskra, 113p
 - Boudiaf, K. ,2006. Etude des effets anti-xanthine oxydoreductase et anti-radicalaires des extraits des graines de *Nigella sativa*. Mémoire de magister .Setif .
 - Bounatirou, S., Smiti, S., Miguel, M.G., Fileiro, L., Rejeb, M.N., Neffati, M., Costa, M.M., Figueiredo, A.C., Barosso, J.G., Pedro, L.G. , 2007 , Chemical composition and antibacterialactivities of the essential oilsisolatedfromTunisian *Thymus capital* Food hemisty; 105; 146-155.
 - Boutaghane N. , 2013 , Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genistaulicina spach* (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sch. Bip.) Coss. And Kralik ex Batt (Asteraceae).These Doctorat. Université de Constantine. 1 : 11-58 pp.
 - Bouzouita N, Kachouri F, Ben Halima M, Chaabouni M , 2008) , Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. J Soc Chim Tunis, 10:119-25.
 - Boyd, D., Ford, C., Koepke, M.C., Gary, K., Horn, E., McAnalley, S., McAnalley, B. , 2003 , Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'ambrotose AOTM sur des personnes en bonne santé. Gluco Science & Nutrition 7.
 - Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G , 2006 , Characterization of thevolatile composition of essential oils of some Lamiaceae spices and the antimicrobialand antioxydant activities of the entire oils. Journal of agricultural and food chemistry,54(5) : 1822- 8.
 - Bruneau, J., Machut, J., & Baillet, N., 2010. Influence des agents solubilisants sur l'activité antimicrobienne des huiles essentielles, Cahiers de Biologie Théorique , 105 : 83-92 .
 - Bruneton, J. , 1999 , Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, revue et augmentée. Tec & Doc, Paris.
 - Bouhaddouda N, 2015, Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium*. Thèse de Doctorat . Univ Badji Mokhtar -Annaba. p18-19.
- C
- Canillac, N., & Mourey, A. , 1996 , Antibacterial activity of the essential oil of *Picea excelsa* on *Listeria*, *Staphylococcus aureus* and coliform bacteria. Food Microbiology, 13(4), 385-38.
 - Caplin J.L., Allan I. & Hanlon G.W., 2009 , Enhancing the *in vitro* activity of *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* by blending oils from specific cultivars. International Journal of Essential Oil Therapeutics 3, pp. 35-39.

- Catalano, L., Lanza, B., & Pagliuca, G. , 1999, Polyphenols in olive oil mill waste waters and their depuration plant effluents: A comparison of the Folin-Ciocalteu and HPLC methods. *Agrochimica*, 43(5), 193-205.
- Cécile L, 2015, Analyse Fine et Stabilisation des Hydrolats de Rose et de Fleur d'Oranger , Université de Montpellier , 220p
- Charles D.J., 2013, Antioxydant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. Springer Science, 255p.
- Chichi B et Chergui N , 2021 , Etude de l'activité antioxydante des extraits des graines de *Piper cubeba* , Université Mohamed Boudiaf - M'sila ,35p .
- Choi, E-M and Hwang, J-K. , 2003 , Investigations of anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Piper cubeba*, *Physalis angulata* and *Rosa hybrida*. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 89, no 1, p. 171-175.
- Cillard, J.,Cillard, P. , 2006 , Mécanismes de la peroxydation lipidique et des antioxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.

D

- Dadalioğlu, I., & Evrendilek, G. , 2004 , Effectiveness of propolis on *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* *in vitro*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 34(2), 119-124.
- Dbeibia, A., Ben Taheur, F., Altammar, KA., Haddaji, N., Mahdhi, A., Amri, Z., M, 2021 , Control of *Staphylococcus aureus* methicillin resistant isolated from auricular infections using aqueous and methanolic extracts of *Ephedra alata*. *Saudi Journal of Biological Sciences* 29: 1021–1028.
- De Billerbeck V.G., Roques C., Vanrière P. & Marquier P., 2002 , Activité antibactérienne et antifongique de produits à base d'huiles essentielles. *Revue hygiène*. Vol. X - N°3, pp. 248- 254.
- Delarras, C., Trébaol, B., Durand, J. ,2010 , Surveillance sanitaire et microbiologique des eaux : Réglementation-Micro-organismes-Prélèvements-Analyse. 2ème édition. Éditions Tec et Doc. Lavoisier. p 542
- Delgado T., Marinero P., Asensio-S.-Manzanera M.C., Asensio C., Herrero B., J.A. Pereira, Ramalhosa E. , 2014 , Antioxydant activity of twenty wild Spanish *Thymus mastichina* L. populations and its relation with their chemical composition, *Food Science and Technology* 57 : 412-418.
- Del-Vechio-Vieira G., Sousa O.V., Yamamoto C.H. and Maria Kaplan A.C., 2009, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Ageratum fastigiatum* (Asteraceae). *Rec. Nat. Prod.* 3:1 pp. 52-57.
- Derwich E., Benziane Z. & Boukir A., 2010 , GC/MS Analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* grown in Morocco. *Res. J. Agric. & Biol. Sci.*, 6 (3):pp. 191-198.
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P and Vidal N. , 2006 , Antioxydant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, *Food chemistry*, 654-660
- Donatien K, 2009. Extraction, Identification D'alcaloïdes -caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydant, These Doct, Université Paul Verlaine de METZ – UPV- M (France), p21, 22.
- Dorman H.J.D. and Deans S.G., 2000 , Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88, pp. 308-316.
- Al-Snafi , 2018 ,The chemical constituents and pharmacological effects of *Foeniculum vulgare* - A review ,*IOSR Journal Of Pharmacy* ,Volume 8, Issue 5 Version. PP. 81-96.
- Dupont, F., Guignard, J.L. , 2007 , Abrèges botanique systématique moléculaire.14ème édition révisée, Masson.
- Dusant J. , 2005 , Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies 6^{ème} ed ; Dunod, Paris, 542 p.

E

- E. Carri'o and J. Vall'es, 2012 , Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea) , Journal of Ethnopharmacology, vol. 141, no. 3, pp. 1021–1040,
- Ekta M and Sita KS. , 2012, Antimicrobial efficacy of *Piper cubeba* and *Tribulus terrestris*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences , 1(1): 273-279.
- El Fertas-Aissani R., Messai Y., Alouache S., Bakour R. , 2012 , Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. PATBIO-3048; No. of Pages 8.
- El-Anzi, O., 2014. Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus Aureus* isolées au Centre Hospitalier Ibn Sina de Rabat, Doctoral dissertation. Université Mohammed V-Souissi. P 4, 9. 85p.
- Elkolli Meriem , 2017, Structure et Activites des Substances Naturelles : Principes et Applications, Université Ferhat Abbas de Sétif, p74.
- Erkoc, S. ,Erkoc, F., Keskin, N. , 2003 , Theoretical investigation of quercetin and its radical isomers. Journal of Molecular Structure: Theochem, 631, (1-3), 141-146.

F

- F. B. Lewu and A. J. Afolayan, 2009 , Ethnomedicine in South Africa: the role of weedy species , African Journal of Biotechnology, vol.8, no. 6, pp. 929–934,
- Alminderej F, Bakari S, Almundarij T, 2020 , Antioxidant Activities of a New Chemotype of *Piper cubeba* L. Fruit Essential Oil (Methyleugenol/Eugenol): In Silico Molecular Docking and ADMET Studies , Plants ,18p
- Farhat A, 2010, Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application. Autre. Université d'Avignon, France.
- Farukh S , Abdujabbor V , Prabodh S , Isomiddin G , Salomudin Y , William N., 2017, Cytotoxicité de l'Huile Essentielle de Fenouil (*Foeniculum vulgare*) du Tadjikistan , Liste des journaux nourriture , ;6(9) : 73.
- Fatoun Marina et Saheb Rosa , 2015 , Evaluation de l'activité antioxydant de différents extraits de *Foeniculum Vulgare* , universite A.MIRA –Béjaia- , 36p .
- Fauchere IL, Avril JL , 2002 , Bactériologie générale et médicale. Editions Ellipses. Paris1, p 368.
- Favier, A. , 2003 , Mécanismes biochimique l'actualité chimique- Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique,P : 108-115-111.
- Fayed S.A. , 2015, Chemical Composition, Antioxidant, Anticancer Properties and Toxicity Evaluation of Leaf Essential Oil of *Cupressus sempervirens*, Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 43(2) : 320-32.
- Febiyanto, I. , 2018 , Pengaruh Ekstrak Buah Pepaya (*Carica papaya* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans*. Naskah Skripsi, Universitas Muhammadiyah Semarang. 10p .
- Ferron, A. , 1983 , Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine, 12ème édition, éditions C. et R., 376 p.
- Fluckiger F ,A , Hanbury D , 1878 , histoire des drogues d'origine végétal , volume 2,page 353
- Frankel E.N., 1996. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality , Food Chemistry, 57: 51-55.
- Franz C., Novak J. , 2010 , Sources of essential oils in Handbook of essential oils science, technology and applications, pages 39-73, Başer K. H. C. et Buchbauer G., CRC Press. USA.
- Friedman, M., Klifman, N., & Oren, Y. , 2002 , The effect of different storage conditions on the activity of *Escherichia coli* O157:H7 in raw beef. International Journal of Food Microbiology, 74(1-2), 1-6.

G

- Gachkar L., Yadegari D., Rezaei M.B., Taghizadeh M., Astaneh S.A. and Rasooli I., 2007 , Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chem., 102: pp.898-904.
- Ganzler, K., Salgo, A., & Valko, K. , 1986 , Microwave-assisted solvent extraction: a new method for extraction of polar organic solutes from solid matrices. Analytical Chemistry, 58(3), 667-670.
- Garnéro J. , 1996 , Huiles essentielles. Techniques de l'Ingénieur, traité Constantes physicochimiques ; K 345-1, 39p.
- Gaziano R, Moroni G, Buè C, Tony Miele M,Vallebona PS, Pica F., 2016 , Antitumor effects of thebenzophenanthridine alkaloid sanguinarine:evidence and perspectives. World J Gastroint Oncol , 8(1): 30-39.
- Ghestem A, Seguin E, Paris M, Orecchioni A. , 2001 , Le préparateur en Pharmacie: Botanique-Pharmacognosie- Phytothérapie- Hoéopathie. 2ème édition, Tec et doc, Paris. 273 p.
- Goudjil Mohamed Bilal , 2016 , Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques , Université Kasdi Merbah – Ouargla ,132p
- Granum, P. E. , 1994 , *Bacillus cereus* and its toxins. Society of applied bacteriology symposium series 23: 61S-66S.
- Gusson-Zanetoni JP, da Silva JSGM, Picão TB, Cardin LT, Prates J, Sousa SO. , 2022 , Effet de l'extrait total de *Piper cubeba* et des lignanes isolés sur les lignées cellulaires de cancer de la tête et du cou et les fibroblastes normaux. J Pharmacol Sci , 148 :93 à 102.

H

- Haddouchi F., Chaouche T.M., Halla N., 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. Phytothérapie, 9p.
- Hafiane, A., Ravaoarino M. , 2008 , Différentes méthodes de typage des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des patients atteints de mucoviscidose. Médecine et maladies infectieuses 38: 238–247.
- Hamed Djahira , 2022 , Lycopène : Propriétés chimiques, biologiques et bienfaits santé , Université Abdelhamid Bn Badis Mostaganem, 76p
- Hamoudi N , 2012 , Caractéristiques des huiles essentielles et son application antimicrobienne de la plante «*Ocimum basilicum* », UniversitéKhemis- Miliana, 61p
- Han J., Ye M., Qiao X., Xu M., Wang B. R., Guo D. A. , 2008 , Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 47(3) : 516-525.
- Heller W., Forkmann G. , 1993 , The flavonoids. Advances in research since 1986. In Harborne JB. Secondary Plant Products. Encyclopedia of plant physiology. Ed. Chapman et Hall, London. UK. Pp 399-425.
- Hill ,1756 ,The British Herbal: An History of Plants and Trees, Natives of Britain, Cultivated for Use, or, Raised for Beauty, London, UK .
- Hoff Brait DR, Mattos Vaz MS, da Silva Arrigo J., Borges de Carvalho LN, Souza de Araújo FH, Vani JM, da Silva Mota J., Cardoso CAL, Oliveira RJ, Negrão FJ. , 2015 , Analyse toxicologique et effets anti-inflammatoires de l'huile essentielle de feuilles de *Piper vicosanum* . Régul. Toxicol. Pharmacol , 73 : 699-705. est ce que je: 10.1016/j.yrtph.2015.10.028.
- Hölzel CS, Tetens JL, Schwaiger K. , 2018 , Unraveling the Role of Vegetables in Spreading Antimicrobial-Resistant Bacteria: A Need for Quantitative Risk Assessment. Foodborne Pathog Dis , Nov;15(11):671-688
- Hopkins, W. , 2003 , Physiologie végétale, 3ème édition, boeck ,Université rue des Minimes 39-B-1000 Bruxelles, p : 138-139-267.

- Hosseini Behbahani, M., Noshad, M., & Falah, F. , 2013 , Chemical composition and antimicrobial activity of *Thymus daenensis* and *Thymus vulgaris* essential oils. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 16(1), 74-83.
- Hussain A.I., Anwar F., Sherazi T.HS.et Przybylski R., 2008 , Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. Food Chemistry, 108, 986-995.
- Hyun, T. K., Kim, M. O., Lee, H., Kim, Y., Kim, E., & Kim, J. S. , 2014 , Antidiabetic effects of phenolic extracts from *Thymus quinquecostatus* Celak. through inhibition of α -glucosidase and α -amylase. Journal of Food and Drug Analysis, 22(4), 320-325.

I

- Imelouane B., Amhamdi H., Wathelet J.P., Ankit M., Khedid K. and El Bachiri A., 2009 , Chemical composition of the essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. Int. J. Agric. Biol., 11: pp. 205-208.
- Imelouane B., Tahri M., Ankit M., khdid K., Amhamdi H. Dubois J. & Elbachiri A., 2010 , The essential oil of eastern moroccan *Rosmarinus Officinalis*: chemical composition, in vitro antimicrobial and antioxydant activities. Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. Vol 4, N°2, pp. 120-141.
- Inouye, S., Tsuruoka, T., Uchida, K., Yamaguchi, H., 2001, Microbiol. Immunol., 43, pp.201– 208. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p
- Inouye, S., Tsuruoka, T., Uchida, K., Yamaguchi, H., 2001 , Microbiol. Immunol., 43, pp.201–208. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning MedicinalPlants into Drugs. Ed. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.

J

- J. Ennadir, R. Hassikou, F. Bouazza, M. Arahoul, G. Al Askari, K. Khedid , 2014 , Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill ,Volume 12 ,302-308p.
- J. Kaur et D. S. Arora , 2009 , Antibacterial and phytochemical screening of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* , BMC Complementary and Alternative Medicine, 6:9:30 .
- Jacob M., Pellecuer J. & Tomei R. , 1979 , Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. Rivista Italiana E.P.P.O.S. 11: pp. 26-30.
- Jawetz, M. & A. , 2010 , Mikrobiologi kedokteran (25 ed.; S. A. M. Brooks, G.F., Janet, S.B., Ed.). Jakarta: Kedokteran EGC.
- Jensen S, Hansen J, Boll PM. , 1993 , Lignans and neolignans from piperaceae. Phytochemistry , 33:523–30.
- Jensen W., Hansen J., Boll P., 1993 , Lignans And Neolignans From Piperaceae. Phytochemestery, 33(3):523-530.
- Jonas D., Spitzmuller B., Daschner F.D., Verhoef J et Brisse S. , 2004 , Discrimination of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* phylogenetic groups and other *Klebsiella* species by use of amplified fragment length polymorphism. Res. J. Microbiol. 155: 17-23.

K

- Kadri A, Zarai A, Békir A. , 2011, Chemical composition and antioxidant activity of *Marrubium vulgare* L. essential oil from Tunisia. Afr J Biotechnol 10:3908–14
- Kamanzi AK , 2002 , Plantes médicinales de Côte d'ivoire : Investigations phytochimiques guidées par des essais biologiques , Thèse de doctorat, Université de Cocody, Abidjan, p 176.
- Kamatou G.P.P., Viljoen A.M. and Steenkamp P. , 2009 , Antioxidant, antiinflammatory activities and HPLC analysis of South African *Salvia* species. Food Chemistry, pp. 1-5.
- Kechkar M., 2008 , Extraction de la silymarine et étude de son activité antimicrobienne. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. 99p.

- Kelen M, Tepe B , 2008 , Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource Technology*, 99 : 4096 – 4104.
- Kettab M , Sahraoui R ,Tadjine A , 2021 , Évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vitro et in vivo de deux plantes médicinales, *Cistus* Sp, *Lavandula stoechas*, Université des Frères Mentouri Constantine , 101p
- Kihal M Et Guessas B , 2007 , Les potentialités métaboliques des bactéries lactiques isolées du lait cru de chèvre dans le bio-contrôle de *Staphylococcus aureus* , université d'oran ES-SENIA , 127p
- Koroch A.R., Juliani H.R., et Zygadlo J.A. , 2007 , Bioactivity of Essential Oils and Their Components. In: Berger R.G. *Flavours and Fragrances: Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 85-115.
- Kothe H.W. , 2008, 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre editions. Toulouse, 328p.
- Koul O., Walia S. and Dhaliwal G.S. , 2008 , Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopestic. Int.* 4(1): pp.63–84.
- Krief Sabrina , 2003 , Métabolites Secondaires des Plantes et Comportement Animal : Surveillance Sanitaire et Observations de L'alimentation de Chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) En Ouganda Activités Biologiques Et Étude Chimique De Plantes Consommées, 348p.
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., & Milos, M. , 2004 , Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633-640.
- Kutchan T.M., Gershenzon J., Møller B.L., Gang D.R. , 2015 , Natural products, in Buchanan B.B., Grissem W., Jones R.L., *Biochemistry & molecular biology of plants* 2nd Edition, John Wiley & Sons, UK.

L

- L. Cornara, A. La Rocca, S. Marsili, and M. G. Mariotti , 2009 , Traditional uses of plants in the Eastern Riviera (Liguria, Italy), *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 125, no. 1, pp. 16–30.
- Lahlou M , 2004 , Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oil. *phytotherapy Research*, 18 : 435-448.
- Lakhdar L , Ennibi O K , Abdellah F , 2016, Pharmacological Composition of Oregano (Essential oil) Exhibiting an Antibacterial effect on The Jp2 Clone Of *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* , 7p.
- Lazouni H A, Benmansour A, Chabane S, Smahi M , 2006 , Valeurs nutritives et toxicité du foeniculum vulgare miller. *Afrique Science*, 02(1) : 94-101.
- Lim T. , 2012 , Piper cubeba, in: edible medicinal and non-medicinal plants. Berlin: Springer , p. 311–21.
- Lo Cantore P., Iacobellis N.S., De Marco A., Capasso F. and Senatore F., 2004 , Antibacterial activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller var. vulgare (Miller) essential oils. *J. Agric. Food Chem.*, 52: pp.7862-7866.
- Loizzo M.R., Menichini F., Conforti F., Tundis R., Bonesi M., Saab A.M., Statti G.A., de Cindio B., Houghton P.J., Menichini F., Frega N.G., 2009, Chemical analysis, antioxidant, anti-inflammatory and anticholinesterase activities of *Origanum ehrenbergii* Boiss and *Origanum syriacum* L. essential oils, *Food Chemistry* 117 : 174–180
- Lopez P, Sanchez C, Batlle R, Nerin C , 2005 , Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(17) : 6939-6946.
- Lv F, Liang H, Yuan Q, et al , 2011 , In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res Inter* 44:3057–64

M

- Minhas S. Mehmood, N. M. Gulfraz , 2008 , Composition and antimicrobial properties of essential oil of *Foeniculum vulgare*, *African Journal of Biotechnology*, vol. 7, no. 24, pp. 4364–4368, 2008.

- M. H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A. Selim, and K. I., 2013 , Khalel, Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.), Industrial Crops and Products, vol. 44, pp. 437–445,
- M. J. Macia, E. Garc'ia, and P. J. Vidaurre, 2005 , An ethnobotanical survey of medicinal plants commercialized in the markets of laPaz and El Alto, Bolivia, Journal of Ethnopharmacology, vol. 97, no. 2, pp. 337–350,
- M. Marotti, V. Dellacecca, R. Piccaglia, E. Giovanelli , 1993 , Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* mill , ACTA Horticulturae 331. WOCMAP, Italy , p63.
- Macheix J-J, Fleuriet A et Allemand C J. , 2005 , Les composés phénoliques des végétaux « un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». Ed ; Presse polytechniques et universitaires romandes; 192.
- Madi, A. , 2010 , Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques, Mémoire de Magister .Université Mentouri Constantine.
- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. , 2013 , Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). p36
- Marouf, A., Reynaud, J. , 2007 , La botanique de A à Z. DUNOD , paris, p :9-114-151-167-176-177-295-298.
- Martin S et Andriantsitohaina R, 2002 , Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. Annales de cardiologie et d'angéiologie, p51.
- Mayachiew P. & Devahastin S. , 2008 , Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Science and Technology 41; pp. 1153-1159.
- Medbouhi Ali , 2018 , Recherche de nouveaux principes actifs issus des espèces du genre *Eryngium* de l'Ouest Algérien , Université Pasquale Paoli – Corse – , 140p
- Melo, D. L., Melo, M. R., Mendonça, E. A. A., Albuquerque, G. S., Silva, F. J., & Soares, L. A. L. , 2013 , Antiparasitic activity of *Lippia gracilis* essential oil against *Leishmania amazonensis*. Acta Tropica, 125(3), 1-5
- Merabet G. , 2018 , : Huiles essentielles de trois espèces d'Eucalyptus d'Algérie composition et activité acaricide (*Varroa destructor*). Université des frères Mentouri constantine1 , 136p.
- Mesquita JMO, Oliveira AB, Braga FC, Lombardi JA, da Cunha AP, Salgueiro L., Cavaleiro C. , 2006 , Constituants de l'huile essentielle de *Piper vicosanum* Yunker de la forêt atlantique de Brazilia. J. Essent. Rés. Pétrole , 18 : 392-395.
- Minchella, A., Molinari, L., Alonso, S., Bouziges, N., Sotto, A., Lavigne, J.P. , 2010 , Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire entre 2002 et 2006. Pathologie Biologie 58:1–6.
- Mokrani, A., Madani, K. , 2016 , Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. Sep. Purif. Technol. 162: 68-76 .
- Moroh, J.L.A., C., Bahi, K., Dje, Y.G. Loukou .F., Guede-guina. , 2008 , Study of the antibacterial activity of *Morinda morindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) acetatic extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. Bulletin Societe Royale des Sciences Liege, 77: 44-61.
- Moud MG, Kavimani S. , 2016 , Effect of methanolic extract of *Piper cubeba* L. Fruits on the pharmacokinetics of pioglitazone in rats. World J Pharmaceut Sci. 4:104–9.
- Mouzaoui Malika; Tamindjoute Safia. , 2012 , Caractérisation et identification de quelques plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle pour traiter certaines pathologies liées au stress oxydatif, Master, Université Abderrahmane Mira-Bejaia, p26.
- Myrtéa Formations , 2005, Monographie *Foeniculum vulgare* var. dulce - version 15 , p4

- Nahak G., Sahu R. K., 2011 , Phytochemical evaluation and antioxidant activity of *Piper cubeba* and *Piper nigrum*, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1(8):153–157.
- Namiki M., 1990 , Antioxidants/Antimutagens in Food , CRC critical reviews in food science and nutrition, 29, 273-300.
- Nauciel Cet vildé J.L. , 2005 , Bactériologie médicinales vétérinaires ,2eme édition, Paris ,P52.
- Nguyen AT, Tallent SM. , 2019 , Screening food for *Bacillus cereus* toxins using whole genome sequencing. Food Microbiol. Apr;78:164-170.
- Nikhat F., Satynarayana D. etSubhramanyam E.V.S., 2009 , Isolation, charectrisation and screening of antioxidant activity of the roots of *Syzygiumcumini* (L) Skeel. Asian J. Research Chem., 2, 218-221.

O

- Ouis N , 2015 , Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat ,Université d’Oran, 239 p.
- Oussou K.R., Yolou S., Boti J.B., Guessennnd K.N., Kanko C., Ahibo C. & Casanovad J., 2008 , Etude chimique et activite antidiarrheique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopee ivoirienne. European Journal of Scientific Research. Vol.24, №1, pp. 94-103.
- Oyaizu M., 1986, Studies on product of browning reaction prepared from glucoseamine. Japan Journal of Nutrition, 44, 307-315.
- Ozkan, G., Sagdic, O., Korkmaz, A. F., & Topakci, F. , 2003 , In vitro antibacterial activity of Turkish propolis. Journal of Ethnopharmacology, 89(1-2), 157-160.

P

- P. M. Guarrera and V. Savo, 2013 , Perceived health properties of wildand cultivated food plants in local and popular traditions ofItaly: a review , Journal of Ethnopharmacology, vol. 146, no. 3,pp. 659–680.
- Pachpute AP, Tushar A and Deshmukh. , 2013 , Antioxidant and hepatoprotective activity of an ethanol extract of *Piper cubeba* Fruits. Int. J. Res. Dev. Pharm. L. Sci. , 2(2):321-329.
- Paloma F. , 2012 , Les plantes de la famille des Apiacees dans les troubles digestifs. Pharmaceuticallsciences , 00740660 : 63.
- Paré J.R.J., Sigouin M. et Lapointe J., 1990 , Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. Brevet européen , EP 398798
- Parejo,I, Francece V, Jaume B, Alfredo R, Nadin F, Jesuce B et Carl C , 2002 , comparaison between the radical scavenging activité of six distilled and nodistilled mediterranean Herbs aromatic.plants. Agricultural and Food Chemistry.50, 6882-6890
- Parmar VS, Jain SC, Bisht KS, Jain R, Taneja P, Jha A. , 1997 , Phytochemistry of the genus piper. *Phytochemistry*. 46:597–673.
- Paster, N., Menasherov, M., Ravid, U., Juven, B., & Shaaya, E. , 1990 ,The mode of action of essential oils from aromatic plants of Israel. The American Journal of Essential Oils and Natural Products, 1(1), 16-20.
- Pibiri M.C. , 2006 , Assainissement de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles. Thèse de doctorat. Ecole polytechnique f d rale de Lausanne, pp. 28-52.
- Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., & Roura, S. I. , 2003 , Evaluation of the antimicrobial activity of essential oils of *Lavandula officinalis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. inoculated with *Klebsiella pneumoniae*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 130(47), 17897-17902.

R

- R. Manonmani and V. M. Abdul Khadir, 2011, Antibacterial screening on *Foeniculum vulgare* Mill, International Journal of Pharma and Bio Sciences, vol. 2, no. 4, pp. 390–394,

- R. Sharma, R. K. Manhas, and R. Magotra. , 2012 , Ethnoveterinary remedies of diseases among milk yielding animals in Kathua, Jammu and Kashmir, India, Journal of Ethnopharmacology, vol. 141, no. 1, pp. 265-272.
- Ragnarsson J.O., Leick D. et Labuza T.P., 1977, Accelerated temperature study of antioxidants . Journal of Food Science, 42, 1536-1544.
- Rahami R. & Ardekani M.R.S. , 2013 , Medicinal properties of *Foeniculum vulgare* Mill. In traditional Iranian medicine and modern phytotherapy. *Chin J integr Med*, 19(1): 7379
- Rather M , Dar A. B . , Ahmad B. , 2012 , *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phyto-chemistry, pharmacology, and safety , Arabian Journal of Chemistry, page3_4 .
- Razakarivony A.A., Andriamihaja B. & Razanamahefa B., 2009 , Etude chimique de l'huile essentielle des feuilles de *Callistemon rigidum*. Actes du symposium biomad. Université d'Antananarivo. 28p.
- Rhayour K., 2002, Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès, Maroc, 170p.
- Robert, D., 2013 , *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM): généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Angers, Département Pharmacie 16, Boulevard Daviers - 49045 ANGERS Cedex. p 21-23. 115P
- Roby M.H.H., Sarhan M.A., Selim K.A., Khalel K.I. , 2013, Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts, Industrial Crops and Products 43 : 827– 831
- Rota MC, Herrera A, Martinez RM. , 2008 , Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. Food Control 19:681–7 .
- Róźalski A, Torzewska A, Moryl M, Kwil I, Maszewska A, Ostrowska K, Staćzek P , 2012 , *Proteus* sp.3an opportunistic bacterial pathogen3 classification, swarming growth, clinical significance and virulence factors. Folia Biologica et Oecologica, 8(1): 1-17.

S

- S. H. Park and I. Seong , 2010 , Antifungal effects of the extracts and essential oils from *Foeniculum vulgare* and *Illicium verum* against *Candida albicans*, Korean Journal of Medical Mycology, vol. 15, no. 4, pp. 157–164,
- Safaei-Ghomi, J., & Ebrahimabadi, A. H. , 2009 , Antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its constituent carvacrol. Food Chemistry, 115(4), 1524-1528.
- Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J, Shinwari ZK. , 2019 , Piper species: a comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. Molecules , 24:1364.
- Salkar K, Suthar A, Chotalia C., 2014 , Anti-candida activity of an oral gel developed using piper cubeba oil. J Pharmaceut Biol Sci. 2:44.
- Santosh M. Kurbetti, Rakeshkumar Jat, Sachin Mali, 2022 , Phytochemical And Antioxidant Activity Of Piper Cubebaleaves, 10p .
- Sari, D. P. , 2012, Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Naskah Tugas Akhir, UNS (Sebelas Maret University), 52p.
- Sarma J.C. , 2011 , Naturally occurring polyphenols and their utility, in Chemistry of Phenolic Compounds: State of the Art, Baruah J.B., Nova Science Publishers, Inc., New York , pages 19-29 .
- Schoeters F, & Van Dijck P. , 2019 , Protein-Protein Interactions in *Candida albicans*. Frontiers in Microbiology,

- Sell C., 2010, chemistry of essential oils, in Handbook of essential oils science, technology and applications, Başer K. H. C. et Buchbauer G., CRC Press. États-Unis , pages 121-150 .
- Senatore F , Oliviero F , Scandolera E , Tagliatalata-Scafati O , Roscigno, Massimo Zaccardelli R , De Falco E , 2013 , Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of anethole-rich oil from leaves of selected varieties of fennel [*Foeniculum vulgare* Mill. ssp.vulgare var.azoricum (Mill.) Thell]. Fitoterapia , 90: 214-219.
- Septiani, K., Sari, M., & Syarifah, R. , 2017 , Antibacterial and antibiofilm activities of propolis against *Pseudomonas aeruginosa*: In vitro and in vivo studies. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 10(3), 127-131.
- Shamkant B., Badgujar , 2014 , *Foeniculum vulgare* Mill: A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacology, Contemporary Application, and Toxicology. Hind Pub Corpor Bio Med Res Inter. Article ID 842674. 32 pp.
- Sharma K, Guleria S, Razdan VK, Babu V. , 2020 , Synergistic antioxidant and antimicrobial activities of essential oils of some selected medicinal plants in combination and with synthetic compounds. Industrial Crops and Products, 154(January) 112569
- Shibamoto T , 2014 , Measuring the Antioxidant Activity of Food Components in Bartosz G., Food Oxidants and Antioxidants Chemical, Biological, and Functional Properties, CRC Press, Etats unis, 550 p .
- Sigouin M. et Lapointe J. , 1990 , Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. Brevet européen , EP 398798.
- Singh, M., Singh, G., Kapoor, V. K., Pandey, A., & Sharma, R. K. , 2002 , Antibacterial activity of an ethanolic extract of propolis on gram-positive and gram-negative bacteria. Microbial Research, 157(3), 283-289.
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. , 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in Enzymology, 299, 152-178
- Stefanini M.B., Ming L.C., Marques M.O.M., Facanali R., Meireles M.A.A., Moura L.S., Marchese J.A. and Sousa L.A., 2006 , Essential oil constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. vulgare).Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, Vol.8, pp.193-198.
- Su Y.C., Lu S.Y., Ho C.L., Wang E.I-C. and Wei X.T. , 2008, Composition and bioactivities of the leaf essential oils of *Cinnamomum subavenium* Miq. from Taiwan. Journal of Essential Oil Research Vol. 20; pp. 328-335.
- Sylvain Sutour , 2010 , Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats. Chimie. Université de Corse, Français.

T

- Tawaha K., Alali F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., El-Elimat, T. , 2007, Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. Food Chemistry 104(2007) 1372-1378.
- Thayumanavan B and Sadasivam S. , 2003 , Molecular Host Plant Resistance to Pests. CRC Pres LLC.
- Thi Dao VU. , 2008 , Effets de l'environnement sur la croissance et l'accumulation de métabolites secondaires chez *Daruta innoxia* Mill. Cultivé en conditions hors sol ; impact des facteurs biotiques et abiotiques, Institut National Polytechnique De Lorraine, p17.
- Traoré M. C. , 2006 , Étude de la phytochimie et des activités biologiques de quelques plantes utilisées dans le traitement traditionnel de la dysménorrhée au Mali. Thèse de doctorat. Université de Bamako, Mali, pp. 175p.

U

- Upadhyay R.K., Dwivedi P. and Ahmad S. , 2010 , Screening of antibacterial activity of six plantessential oils against pathogenic bacterial strains. Asian Journal of Medical Sciences 2 (3): pp.152-158.
- Usia T, Watabe T, Kadota S, Tezuka Y. , 2005 , Potent CYP3A4 inhibitory constituents of *Piper cubeba*. J Nat Prod , 68:64–8. 10.1021/np0401765

V

- Vansant, K . , 2004 , Antioxidants: A Small but Growing Ingredient Category. Food Technology, 58(11), 20-23.
- Vienna C.F., Bauer R., Carle R., Tedesco D., Tubaro A. and Zitterl-Eglseer K. , 2005 , Assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as “additives” for use in animal production. FEEDAP ; 297p.
- Vrinda Menon K. and Garg S.R., 2001 , Inhibitory effect of clove oil on *Listeria monocytogenes* in meat and cheese. Food Microbiol. 18: pp.647-650.

W

- W. Wardencki, J. Curyło, J. Namieśnik. , 2007 , Trends in solventless sample preparation techniques for environmental analysis, J. Biochem. Biophys. Methods. 70 : 275–288.
- Weiping H, Baokang H. , 2011 , A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. Journal of Medicinal Plants Research, 5(16) : 3595-3600.
- Wichtl M, Anton R. , 2003 , Plantes thérapeutiques – Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique, 2ème édition .
- Wilkinson J.M ., 2006 , Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. Chapter VIII. pp.157-165. In Ahmad I., Aqil F. and Owais M. Modern Phytomedicine : Turning Medicinal Plants into Drugs. Ed. Wiley-Vch Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 405p.
- William B. R.,Whitman., T Krieg ., T James ., R Daniel .,P Brian Hedlund., J. Paster. , 2010 , Bergey’s Manual Of Systematic Bacteriology. Springer New York Dordrecht Heidelberg, London.pp 25-49.
- Wojdyło A., Oszmianski J., Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. Food chemistry, 105:940-949.
- Wong, J.G., Anderson, R.A., Graham, G.M., Chu, M.C., Sauer, M.V., Guarnaccia, M .M ., Lobo, R.A 2006 , The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study. FertilSteril , 12p .

Y

- Yaffe PB, Doucette CD, Walsh M, Hoskin DW. , 2013 , Piperine impairs cell cycle progression and causes reactive oxygen species-dependent apoptosis in rectal cancer cells. Exp Mol Pathol , 94:109–14.
- Yala. J. , Ntsameso-Mve-Mba V , Issembe Y A , Lepengue N A , Souza A , Appl. , 2016 , Évaluation in vitro de l’activité antimicrobienne de l’extrait aqueux d’*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de Franceville, Journal of Applied Biosciences 103:9886 – 9893
- Yusuf Andriana ,Tran Dang Xuan ,Tran Ngoc Quy , Hoang-Dung Tran et Quang-Tri Le , 2019 , Article Biological Activities and Chemical Constituents of Essential Oils from *Piper cubeba* Bojer and *Piper nigrum* L , 10p

Z

- Zaika, I.I. , 1988 , Spices and herbs : their antimicrobial activity and its determination , *Journal Food Safety*, 9,97-118.
- Zeghad N. , 2009 , Etude du contenu polyphénolique de 2 plantes médicinales d’intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne . Thèse de magister. Université Mentouri Constantine , 130p .

Références bibliographique

- Zeraïb Azzeddine , 2010 , Monographie du genre *Moricandia* DC., de l'Est algérien Université Ferhat Abbas -Setif- , 83p .

Annexes

Annexe I Composition des milieux de culture

- Milieu Gélose Muller Hinton (MH)

Extrait de viande3 g/l
 Hydrolysant acide de caséine.....17,5g /l
 amidon1,5g/l
 Agar.....16g
 pH = 7,4±0.2

- Milieu Gélose nutritive (GN)

Extrait de levure.....3g/l
 Extrait de viande.....3g/l
 Peptone.....10g/l
 chlorure de sodium5g/l
 Agar.....18g/l
 pH = 7,4

Annexe III

Courbe d'étalonnage

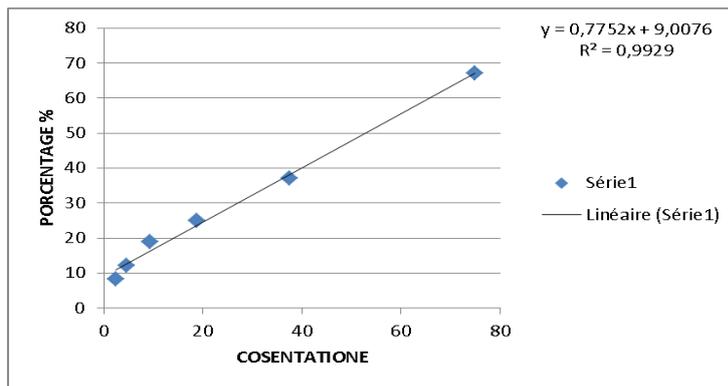
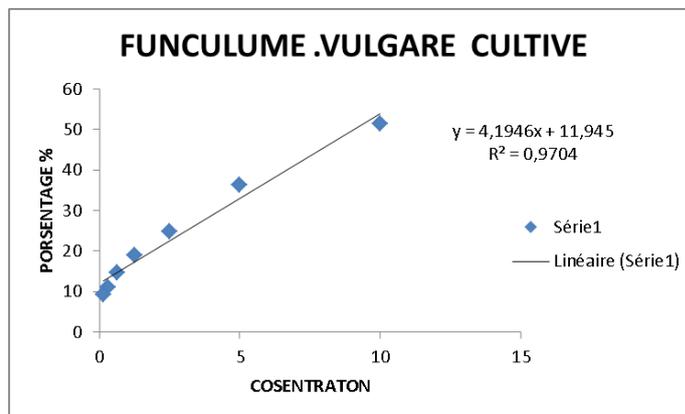


Figure : Activité antioxydante de l'huile essentielle des graines de *F. vulgare*, obtenus par la méthode de DPPH



Figuer :Activité antioxydante de extrait des graines de *F. vulgare*, obtenus par la méthode de DPPH

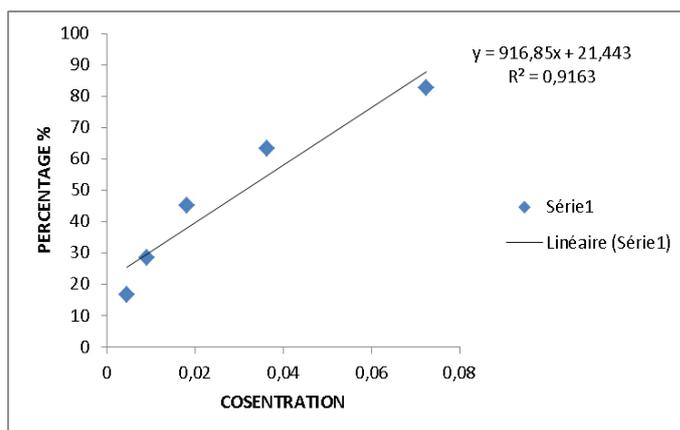


Figure :Activité antioxydante de l'huile essentielle des graines de *P. cubeba* obtenus par la méthode de DPPH

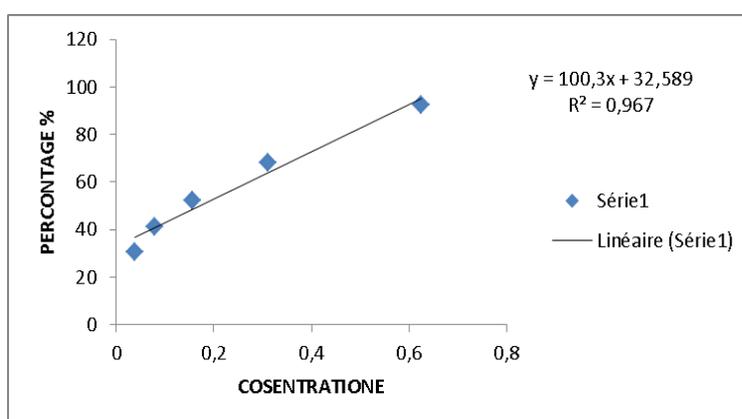


Figure : Activité antioxydante de etrait des graines de *P. cubeba* obtenus par la méthode de DPPH

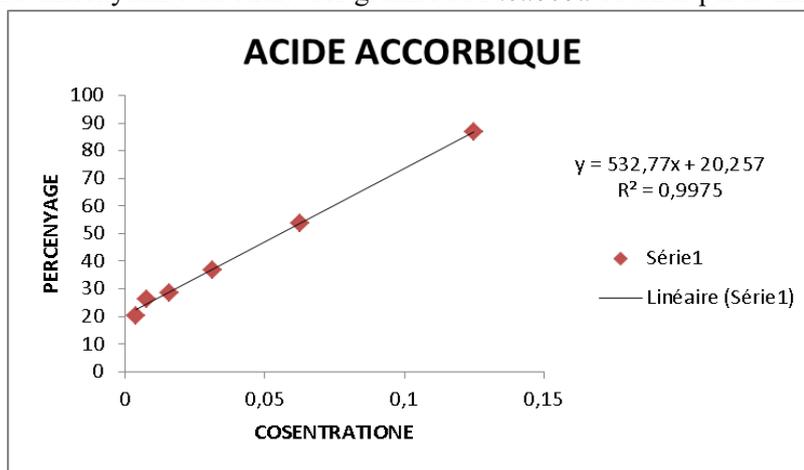


Figure : Courbe d'étalonnage de l'acide Ascorbique

Annexe IV

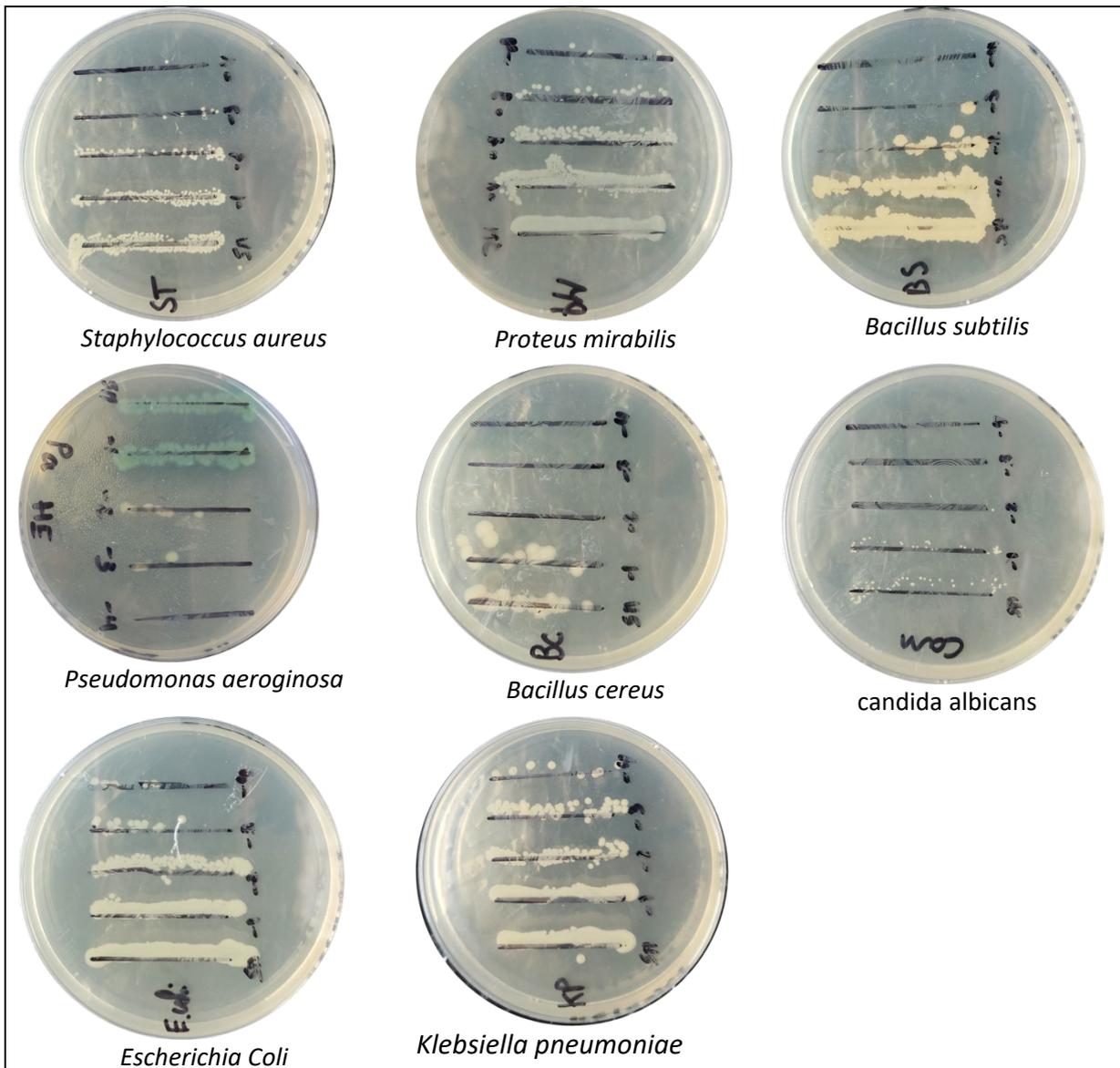


Figure : témoins de CMB .