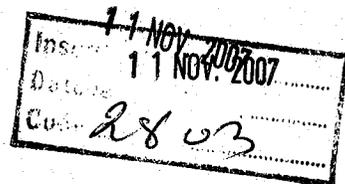




REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE
POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
Faculté des sciences
Département de Chimie



*Thèse présentée pour l'obtention
du titre de docteur d'état
Option : Chimie Organique Appliquée*

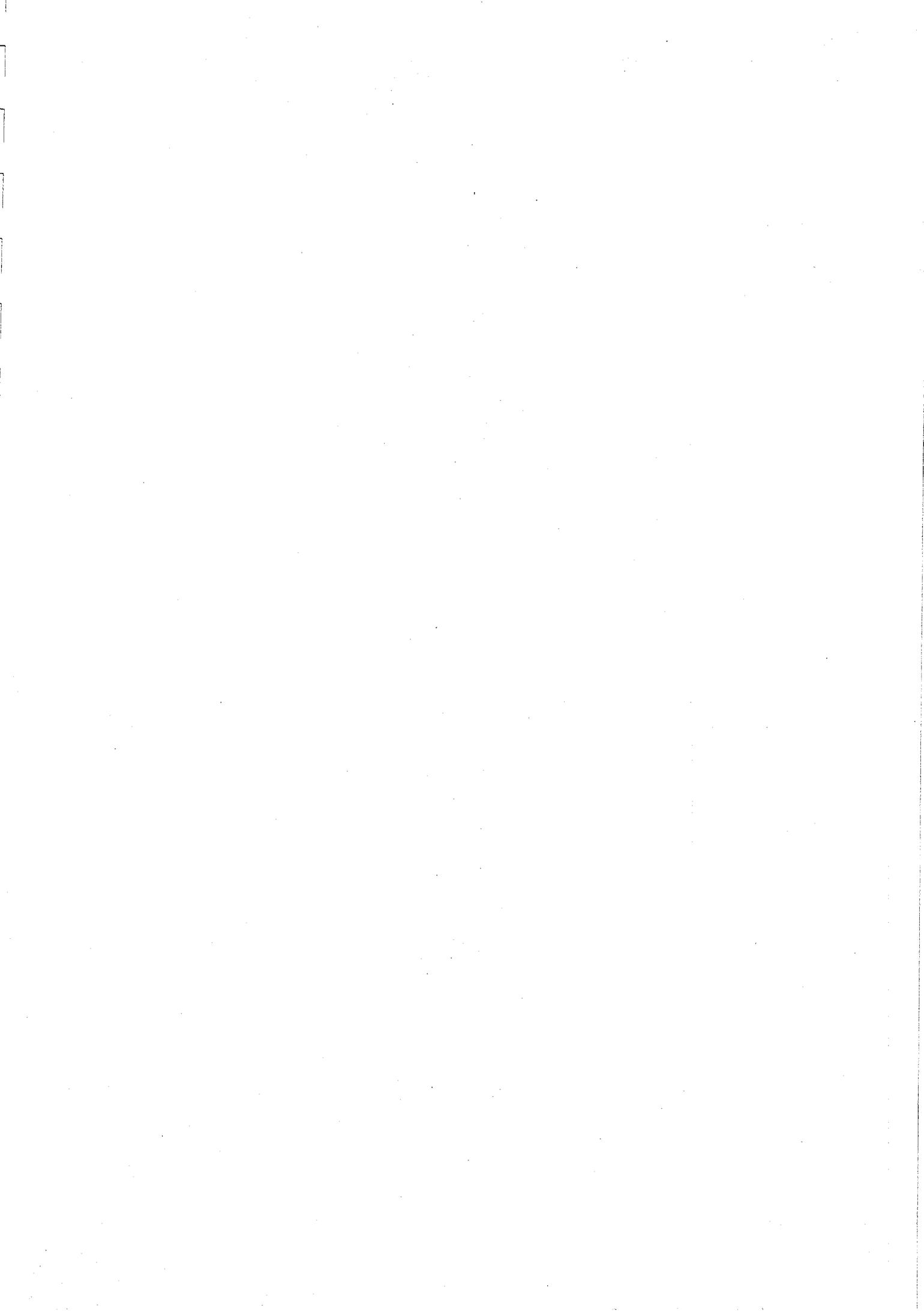
Présentée par : Mr Hamadi Abderrahmane LAZOUNI

Contribution à l'étude de la dégradation des huiles
essentielles du *Foeniculum vulgare* Mill. (fenouil).
Application de la C.P.G/S.M

Soutenue le :

2007 devant la commission d'examen composée de :

| | | |
|------------------------|---|--------------|
| Mr B. TABTI | Pr. Université de Tlemcen | PRESIDENT |
| Mr S.A TALEB-BENDIAB | Pr. Université de Tlemcen | ENCADREUR |
| Mme L.LIZZANI-CUVELIER | Pr.Emérite Université de Nice (France) | EXAMINATRICE |
| Mr B.BENJILALI | Pr. IAV Hassan II Rabat (Maroc) | EXAMINATEUR |
| Mr M.H.GUERMOUCHE | Pr.U.S.T.H.B Alger | EXAMINATEUR |
| Mr.S.HACINI | Pr Université Es-Sénia Oran | EXAMINATEUR |
| Mr. A.BENMANSOUR | Maitre de conférence Université de Tlemcen | EXAMINATEUR |



DEDICACE

Je dédie cette thèse à la mémoire de

Mon père

Mon très cher neveu Mustapha.

A MES ENFANTS

A MA FEMME

A TOUTE MA FAMILLE

A TOUS MES AMIS

TEMOIGNAGE DE MA PROFONDE AFFECTION

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire des Produits Naturels de l'Université Aboubekr Belkaid de Tlemcen sous la direction de Monsieur le Professeur S.A. TABEB-BENDIAB.

Il nous est particulièrement agréable d'assurer Monsieur le Professeur S.A TALEB-BENDIAB de toute notre gratitude pour ses encouragements et la sympathie dont il a toujours su nous entourer. Qu'il nous soit permis de le remercier pour nous avoir confié le sujet et d'en avoir dirigé la réalisation en nous faisant bénéficier de son expérience, de sa compétence et de sa rigueur scientifique.

Monsieur B. TABTI, Professeur à l'Université de Tlemcen et Doyen de la faculté des Sciences, nous fait l'honneur d'accepter de présider ce jury. Qu'il nous permette de lui exprimer notre respectueuse gratitude.

Que Madame L. LIZZANI-CUVELIER Professeur Emérite à l'Université de Nice Sophia Antipolis soit remerciée pour l'attention qu'elle a bien voulu porter à ce travail et accepter de le juger.

Nous exprimons nos respectueux remerciements à Monsieur B. BENJILALI, Professeur à l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II de Rabat d'avoir accepté de faire partie de notre jury de thèse.

Nous tenons à remercier Monsieur M.H. GUERMOUCHE Professeur à l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediène d'Alger de s'être intéressé à notre travail, d'avoir accepté de le juger et de nous avoir aidé pour la réalisation de certaines analyses.

Nos vifs remerciements vont à Monsieur S. HACINI Professeur à l'Université d'Oran Es-Senia de l'amabilité avec laquelle il a accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions très vivement Monsieur A. BENMANSOUR Maître de Conférence à l'Université de Tlemcen et membre du laboratoire des produits naturels d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Nos remerciements vont également à tous mes collègues du laboratoire des Produits Naturels en particulier à D.E. SMAHI et D. CHABANE-SARI pour ses conseils et sa rigueur dans l'étude nutritionnelle.

Je ne saurai oublier l'aide précieuse de Messieurs H. BOUABDELLAH, A. MEZIANE, D. BENMANSOUR et A. ABDERRAHIM et de Madame F. DALI YUCEF pour la réalisation de cette thèse.

ABREVIATIONS UTILISEES

H.E : Huile essentielle

I.A : Indice d'acide

I.E : Indice d'ester

I.P : Indice de peroxyde

I.R : Indice de réfraction

D²⁰ 20 : Densité à 20°C

P.C : Point de congélation

P.R : Pouvoir rotatoire

T : Température

°C : Degré celsius

C.P.G : Chromatographie en phase gazeuse

C.G/S.M : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

RESUMES

RESUME

L'étude des huiles essentielles de fenouil provenant de trois régions différentes de l'ouest algérien a porté sur les conditions de leurs conservations. Cela consiste en la connaissance de l'évolution de certains de leurs caractères chimiques en fonction de la température au cours du temps ; étude n'ayant à notre connaissance jamais été exploitée ni figurée parmi les travaux effectués jusqu'ici sur le fenouil.

Les résultats obtenus ont montré une augmentation des indices d'acide et de peroxyde et une diminution de l'indice d'ester. Ces variations sont d'autant plus importantes pour les essences maintenues respectivement à 27°C et 45°C. Il est à retenir que la température idéale pour la conservation d'une huile essentielle est celle avoisinant 4°C, température pour laquelle l'échantillon a subi une dégradation relativement moins marquée.

La composition chimique de la plante entière (graines, tiges, racines) a montré que les teneurs en macromolécules (17,50% pour les protéines, 13% pour les glucides et 12% pour les lipides) sont relativement acceptables pour une bonne croissance du rat de souche « wistar ».

Cependant, il a été constaté un taux de mortalité important des rats dû probablement à la présence de facteurs antinutritionnels (antiprotéasiques, hémagglutinines) et à la présence de composés toxiques (coumarines, tanins). Des techniques sont citées pour remédier à cette situation.

La chromatographie en phase gazeuse (C.P.G) appliquée aux huiles essentielles de deux fenouils a montré que les échantillons conservés respectivement à 27°C et 45°C présentaient des compositions moins riches que l'essence fraîchement extraite et des chémotypes différents.

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a révélé la présence de cinq composés non identifiés par la C.P.G. Comme pour l'analyse par C.P.G., la C.P.G/S.M confirme l'augmentation très significative des composés majoritaires des deux huiles essentielles en fonction de la température.

MOTS CLES : *Foeniculum* vulgare Mill. (fenouil) – Huile essentielle – Composition chimique – Facteurs antinutritionnels – Toxicité – Chromatographie en phase gazeuse – Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

ABSTRACT

The study of the fennel essential oils, which originate from three different Algerian west regions, has focused on the condition of their preservation. This has to do with the understanding of certain chemical characters' evolution according to the on going temperature. We believe that such study on the fennel has never been done before and isn't present in works done so far.

The obtained results have shown an increase of the acid and the peroxide index as well as a decrease of the ester index. Those variations remain important for the obtained essences kept at 27°C and 45°C. The ideal temperature for the preservation of an essential oil should be about 4°C, a temperature in which the sample has undergone a slight damage.

The entire chemical composition of the whole plant (seeds, stalk, roots) has pointed out that the amount in macromolecules (17,50% for proteins, 13% for the glucids and 12% for the lipids) are relatively acceptable for a good breeding of the pedigree rat "Wistar".

However a high percentage of death has noticed. This is may be due to the lack of anti nutritional factors (anti proteasics, hemagglutinins) and the presence of toxic compounds (couramins, tannins). Some techniques are known for a remedial work.

Gas chromatography (GC) when applied to the essential oils of the two fennel species has demonstrated that samples kept respectively at 27°C and 45°C have shown poorer compositions than a freshly extracted oil, and also different chemo types.

Gas chromatography when paired with mass spectrometry (MS) has revealed the presence of five compounds non identified by GC. Just like the analysis by GC, the GC/MS corroborates a significative increase of the constitution of the major compounds of the two essential oils in accordance with the temperature.

KEY WORDS

Foeniculum Vulgare Mill. (Fennel) – essential oil – chemical composition – anti nutritional factors – Gas chromatography – Gas chromatography paired with mass spectrometry.

ملخص

دراسة الزيوت الأساسية للبسباس الصادر من ثلاثة مناطق مختلفة من الغرب الجزائري تتعلق بشروط حفظ هذه الزيوت. فهي تتضمن معرفة تطور بعض المواصفات الكيميائية وفقا أو تبعا للحرارة مع مرور الزمن. فهذه الدراسة حسب معلوماتنا لم تستغل و لم تنطرق لها البحوث التابعة للبسباس.

النتائج التي حصلنا عليها تبين إرتفاع دلالات الحمض و البيروكسيد و إنخفاض دليل الإستر. هذه التغيرات مهمة كثيرا بالنسبة للزيوت المبقة في درجات حرارة 27°C و 45°C مع العلم أن الحرارة المثالية لحفظ زيت أساسية تقارب أو تجاور 4°C لأن عند هذه الدرجة خضعت العينة لتناقص شبه معدوم.

التركيب الكيميائي للنبات كله (بذرة، ساق، جذور) بين أن قوام المكروموليكالات (%17.50 بروتينات، %13 غلوسيدات، %12 ليبيدات) مقبول لنمو جيد للفار ذو أصل "ويستر".

غير أنه لوحظ معدل مهم من وفيات الفئران راجع ربما لوجود مركبات سامة (كومارين، تانين). هناك تقنيات مذكورة لتفادي هذه الوضعية.

الكروماتوغرافيا في المرحلة الغازية (C.P.G) المجرات على الزيوت الأساسية لنبتتين من البسباس بينت أن العينات المحفوظة عند الدرجة 27°C و 45°C على التوالي تقدم تركيبات ناقصة (فقيرة) مقارنة مع الزيوت المستخرجة حديثا و أيضا تقدم كيموتيبات مختلفة.

الكروماتوغرافيا في المرحلة الغازية و المشتركة مع C.G/S.M قد كشفت عن وجود خمسة مركبات غير معرفة عن طريق الكروماتوغرافيا.

مثل التحليل بـ C.P.G - C.G/S.M تأكد عن تزايد معتبر للمركبات الغالبة بالنسبة للزيتين الأساسيتين تبعا للحرارة.

كلمات مفتاحية

Foeniculum vulgare mill (بسباس) - زيت أساسية - تركيب كيميائي - عوامل ضد التغذية - مركبات سامة - كروماتوغرافيا في المرحلة الغازية C.P.G - الكروماتوغرافيا المشتركة - C.G/S.M.

S O M M A I R E

page

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|---|
| I - PRESENTATION GENERALE DE LA PLANTE..... | 3 |
| I.1 - HISTORIQUE | 3 |
| I.2 - PRESENTATION GENERALE DU FOENICULUM VULGARE MILLER..... | 3 |
| I.2.1 - Description botanique..... | 3 |
| I.2.2 - Classification | 6 |
| I.2.3 - Systématique..... | 6 |
| I.2.4 - Habitat et origine | 7 |
| II - TRAVAUX ANTERIEURS | 7 |
| II.1 - INTERET PHYTOTHERAPEUTIQUE ET PRINCIPES ACTIFS EN PHYTOTHERAPIE.. | 8 |
| II.2 - PROPRIETES THERAPEUTIQUES ET DOMAINES D'UTILISATION..... | 8 |

ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DU FENOUIL

| | |
|---|----|
| I - ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DE FENOUIL DES DIFFERENTES STATIONS..... | 11 |
| I.1 - ZONES D'ETUDES..... | 11 |
| I.1.1 - Situation géographique | 11 |
| I.1.2 - Climatologie..... | 12 |
| I.1.3 - Substrat et pédologie..... | 16 |
| I.2 - FACTEURS DE VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES | 17 |
| I.3 - EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES | 18 |
| I.3.1 - Procédés d'extraction..... | 18 |
| I.3.2 - Préparation des échantillons à l'extraction | 22 |
| I.3.3 - Durée d'extraction | 22 |
| I.4 - TENEURS ET CARACTERISTIQUES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE | 22 |

| | page |
|--|-----------|
| I.4.1 - Teneurs en huile essentielle | 22 |
| I.4.1.1 - Entraînement à la vapeur d'eau..... | 22 |
| I.4.1.2 - Extraction assistée par micro-ondes | 24 |
| I.4.2 - Caractéristiques physiques et chimiques de l'huile essentielle | 25 |
| I.4.2.1 - Caractéristiques physiques..... | 25 |
| I.4.2.2 - Caractéristiques chimiques..... | 26 |
| I.4.2.3 - Résultats des caractéristiques physiques et chimiques..... | 27 |
| II - ETUDE DE LA DEGRADATION DE L'HUILE ESSENTIELLE A L'AIDE | |
| DE CARACTERISTIQUES CHIMIQUES | 30 |
| II.1 - INTRODUCTION | 30 |
| II.2 - EVOLUTION DE L'INDICE D'ACIDE | 31 |
| II.2.1 - Huile essentielle de fenouil de Nédroma..... | 31 |
| II.2.2 - Huile essentielle de fenouil de Honaine | 33 |
| II.2.3 - Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous :..... | 35 |
| II.2.4 - Discussion et interprétation | 37 |
| II.3 - EVOLUTION DE L'INDICE D'ESTER | 39 |
| II.3.1 - Huile essentielle de fenouil de Nédroma :..... | 39 |
| II.3.2 - Huile essentielle de fenouil de Honaine | 42 |
| II.3.3 - Huile essentielle de fenouil de Béni Ouarsous..... | 44 |
| II.3.4 - Discussion et interprétation | 46 |
| II.4 - EVOLUTION DE L'INDICE DE PEROXYDE | 47 |
| II.4.1 - Huile essentielle de fenouil de Nédroma..... | 47 |
| II.4.2 - Huile essentielle de fenouil de Honaine | 50 |
| II.4.3 - Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous..... | 52 |
| II.4.4 - Discussion et interprétation | 53 |
| II.4.4 - Discussion et interprétation | 54 |
| II.5 - INTERPRETATIONS DES INDICES CHIMIQUES AU COURS DE LA | |
| DEGRADATION DES HUILES ESSENTIELLES | 54 |

EXAMEN PHYTOCHIMIQUE DE LA PLANTE

| | |
|--|----|
| I - COMPOSITION CHIMIQUE DU FENOUIL | 57 |
| I.1 - PREPARATION DES ECHANTILLONS | 57 |
| I.2 - TENEURS EN EAU ET EN CENDRES | 58 |
| I.2.1 - Fenouil de Nédroma..... | 58 |
| I.2.2 - Fenouil de Honaine..... | 58 |
| I.2.3 - Fenouil de Béni-Ouarsous | 58 |
| I.3 - COMPOSES DU METABOLISME PRIMAIRE..... | 58 |
| I.3.1 - Fenouil de Nédroma..... | 60 |
| I.3.2 - Fenouil de Honaine..... | 60 |
| I.3.3 - Fenouil de Béni-Ouarsous | 61 |
| I.4 - COMPOSES ISSUS DU METABOLISME SECONDAIRE | 62 |
| I.4.1. Différentes classes recherchées..... | 62 |
| I.4.2 - Fenouil de Nedroma..... | 64 |
| I.4.3 - Fenouil de Honaine..... | 68 |
| I.4.4 - Fenouil de Béni-Ouarsous | 72 |
| I.5 - DISCUSSION..... | 76 |

ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES DE FENOUIL PAR CHROMATOGRAPHIE

| | |
|--|----|
| I - ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE <i>FOENICULUM VULGARE</i> MILL. UTILISANT LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (C.P.G)..... | 78 |
| I.1 - COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE FENOUIL | 78 |
| I.2 - STRUCTURES DE LA MAJORITE DES COMPOSES QUE RENFERME L'HUILE ESSENTIELLE DU <i>FOENICULUM VULGARE</i> MILL | 84 |
| I.3. CONDITIONS OPERATOIRES..... | 88 |

| | page |
|--|------|
| I.4. RESULTATS ET DISCUSSION | 88 |
| 1.4.1 - Huile essentielle de Honaine | 88 |
| 1.4.2 - Huile de Béni-Ouarsous : | 97 |
| 1.4.3 - Comparaison entre les deux huiles essentielles fraîchement extraites | 105 |
| 1.4.4 - Conclusion | 105 |
| II - APPLICATION DE LA CG/SM A L'ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES DE <i>FOENICULUM VULGARE</i> MILL. APRES CONSERVATION | 106 |
| II.1. CONDITIONS OPERATOIRES | 106 |
| II.2 - RESULTATS ET INTERPRETATION | 107 |
| II.2.1 - Huile essentielle de fenouil de Honaine | 107 |
| II.2.1.1 - Huile essentielle conservée à T = 4°C : | 107 |
| II.2.1.2. Huile essentielle conservée à T : 27°C : | 110 |
| II.2.1.3. Huile essentielle conservée à T : 45°C | 113 |
| II.2.2 - Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous | 141 |
| II.2.2.1 - Huile essentielle conservée à T = 4°C | 141 |
| II.2.2.2. Huile essentielle conservée à 27°C | 143 |
| II.2.2.2. Huile essentielle conservée à 45°C | 145 |
| II.3 - CONCLUSION | 173 |
| CONCLUSION GENERALE | 174 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 177 |
| ANNEXE 1 | 177 |
| ANNEXE 2 | 177 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|---------------------------|--|-------------|
| TABLEAU N° I : | Tableau récapitulatif de quelques caractères généraux des trois stations d'étude | P.16 |
| TABLEAU N° II : | Rendements moyens en (%) des H.E par période de cueillette et par station d'étude (entraînement à la vapeur d'eau) | P.22 |
| TABLEAU N° III : | Valeurs des rendements citées par la littérature | P.23 |
| TABLEAU N° IV : | Rendements moyens en (%) des H.E par période de cueillette et par station d'étude (extraction assistée par micro-ondes) | P.24 |
| TABLEAU N° V : | Valeurs des caractéristiques physiques et chimiques des H.E de fenouil mature (décembre) des trois stations d'étude | P.27 |
| TABLEAU N° VI : | Valeurs comparatives des caractéristiques physico-chimiques | P.28 |
| TABLEAU N° VII | Valeurs des caractéristiques physiques et chimiques de quelques H.E normées | P.29 |
| TABLEAU N° VIII : | Valeurs des I.A en fonction de la T au cours du temps (Nédroma) | P.31 |
| TABLEAU N° IX : | Valeurs des I.A en fonction de la T au cours du temps (Honaine) | P.33 |
| TABLEAU N° X : | Valeurs des I.A en fonction de la T au cours du temps (Béni-Ouarsous) | P.35 |
| TABLEAU N° XI : | Valeurs des I.E en fonction de la T au cours du temps (Nédroma) | P.40 |
| TABLEAU N° XII : | Valeurs des I.E en fonction de la T au cours du temps (Honaine) | P.42 |
| TABLEAU N° XIII : | Valeurs des I.E en fonction de la T au cours du temps (Béni-Ouarsous) | P.44 |
| TABLEAU N° XIV : | Valeurs des I.P en fonction de la T au cours du temps (Nédroma) | P.48 |
| TABLEAU N° XV : | Valeurs des I.P en fonction de la T au cours du temps (Honaine) | P.50 |
| TABLEAU N° XVI : | Valeurs des I.P en fonction de la T au cours du temps (Béni-Ouarsous) | P.52 |
| TABLEAU N° XVII : | Valeurs des teneurs en glucides, cellulose, lipides et protéines du fenouil de Nédroma | P.60 |
| TABLEAU N° XVIII | Valeurs des teneurs des composés du métabolisme primaire du fenouil de Honaine | P.60 |
| TABLEAU N° XIX : | Teneurs en glucides, cellulose, lipides et protéines du fenouil de Béni-Ouarsous | P.61 |
| TABLEAU N° XX : | Constituants issus de la graine du fenouil mature de Nédroma | P.65 |
| TABLEAU N° XXI : | Familles de composés chimiques provenant de la tige de fenouil Mature de Nédroma | P.66 |
| TABLEAU N° XXII : | Composés du métabolisme secondaire appartenant aux racines du fenouil mature de Nédroma | P.67 |
| TABLEAU N° XXIII | Tableau récapitulatif regroupant les résultats obtenus sur les différents organes de la plante de Nédroma | P.68 |
| TABLEAU N° XXIV | Constituants du métabolisme secondaire issus de la graine de fenouil mature de Honaine | P.69 |
| TABLEAU N° XXV | Familles de composés chimiques issues de la tige du fenouil mature de Honaine | P.70 |
| TABLEAU N° XXVI | Constituants du métabolisme secondaire provenant des racines du fenouil mature de Honaine | P.71 |
| TABLEAU N° XXVII : | Tableau récapitulatif regroupant des résultats obtenus sur les différentes parties du fenouil de Honaine | P.72 |
| TABLEAU N° XXVIII | Composés issus du métabolisme secondaire de la graine de fenouil mature provenant de la station d'étude de Béni-Ouarsous | P.73 |
| TABLEAU N° XXIX : | Familles de composés chimiques provenant de la tige du fenouil mature de Béni-Ouarsous | P.74 |
| TABLEAU N°XXX : | Constituants du métabolisme secondaire issus de la racine du fenouil mature de Béni-Ouarsous | P.75 |

| | | |
|------------------------------|---|-------------|
| TABLEAU N° XXXI : | Tableau récapitulatif regroupant les résultats obtenus sur les différents organes de la plante de Béni-Ouarsous | P.76 |
| TABLEAU N° XXXII : | Pourcentages des différents constituants de l'H.E de plantule de fenouil amer de 30 jours après extraction par du pentane ou après la technique de désorption (platine D.C.I) | P.80 |
| TABLEAU N° XXXIII | Principaux constituants de l'H.E des fruits de deux fenouils du nord de la France | P.81 |
| TABLEAU N° XXXIV | Constituants les plus importants des H.E de cinq groupes de fenouils sauvages | P.83 |
| TABBLEAU N° XXXV | Résultats de l'analyse de l'H.E fraîchement extraite de Honaine par C.P.G. | P.89 |
| TABLEAU N° XXXVI : | Résultats de l'analyse de l'H.E de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois par C.P.G | P.90 |
| TABLEAU N° XXXVII : | Résultats de l'analyse de l'H.E de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois par C.P.G. | P.91 |
| TABLEAU N° XXXVIII : | Tableau montrant le changement des pourcentages de constituants issus des H.E de fenouil de Honaine | P.96 |
| TABLEAU N° XXXIX : | Résultats de l'analyse de l'H.E fraîchement extraite de Béni-Ouarsous par C.P.G. | P.97 |
| TABLEAU N° XXXX : | Résultats de l'analyse de l'H.E de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois par C.P.G. | P.98 |
| TABLEAU N° XXXXI : | Résultats de l'analyse de l'H.E de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois par C.P.G. | P.99 |
| TABLEAU N° XXXXII : | Tableau montrant la variation des teneurs de constituants des H.E de fenouil de Béni-Ouarsous | P.10 |
| TABLEAU N° XXXXIII | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois | P.10 |
| TABLEAU N° XXXXIV : | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois | P.11 |
| TABLEAU N° XXXXV : | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois | P.11 |
| TABLEAU N° XXXXVI : | Tableau montrant le changement des pourcentages des constituants issus des H.E de fenouil de Honaine | P.11 |
| TABLEAU N° XXXXVII: | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois | P.14 |
| TABLEAU N° XXXXVIII : | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois | P.14 |
| TABLEAU N° XXXXIX : | Résultats de l'analyse par C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois | P.14 |
| TABLEAU N° L | Tableau montrant le changement des teneurs de constituants Issus des H.E de fenouil de Béni-Ouarsous | P.14 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|----------------------------|---|----------------|
| FIGURE n° 1 | Représentation schématique des <i>Foeniculum vulgare</i> mill. | P.4 |
| FIGURE n° 2 | Graines, tiges et racines du <i>Foeniculum vulgare</i> mill. | P.5 |
| FIGURE n° 3 | Carte de situation | P.13 |
| FIGURE n° 4 | Situation géographique de la Wilaya de Tlemcen | P.14 |
| FIGURE n° 5 | Carte bioclimatique de la wilaya de Tlemcen | P.15 |
| FIGURE n° 6 | Extracteur type Magnusson utilisé pour l'entraînement à la vapeur | P.21 |
| FIGURE n° 7 | Evolution de l'I.A de l'H.E de fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température | P.32 |
| FIGURE n° 8 | Evolution de l'I.A de l'H.E de fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température | P.34 |
| FIGURE n° 9 | Evolution de l'I.A de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température | P.36 |
| FIGURE n° 10 | Evolution de l'I.E de l'H.E de fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température | P.41 |
| FIGURE n° 11 | Evolution de l'I.E de l'H.E de fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température | P.43 |
| FIGURE n° 12 | Evolution de l'I.E de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température | P.45 |
| FIGURE n° 13 | Evolution de l'I.P de l'H.E de fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température | P.49 |
| FIGURE n° 14 | Evolution de l'I.P de l'H.E de fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température | P.51 |
| FIGURE n° 15 | Evolution de l'I.P de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température | P.53 |
| FIGURE n° 16 | Chromatographie de l'H.E fraîchement extraite de fenouil de Honaine | P.92 |
| FIGURE n° 17 | Chromatogramme de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois | P.93 |
| FIGURE n° 18 | Chromatogramme de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois | P.94 |
| FIGURE n° 19 | Chromatogramme de l'H.E fraîchement extraite de fenouil de Béni-Ouarsous | P.100 |
| FIGURE n° 20 | Chromatogramme de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois | P.10 |
| FIGURE n° 21 | Chromatogramme de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois | P.10 |
| FIGURE n° 22 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois | P.10 |
| FIGURE n° 23 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois | P.11 |
| FIGURE n° 24 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois | P.11 |
| FG n° 25 – FG n° 32 | Spectrotres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois | P.P.117 |
| FG n° 33 – FG n° 39 | Spectres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois | P.P.125 |

| | | |
|----------------------------|---|------------------|
| FG n° 40 – FG n° 48 | Spectres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois | P.P.132 - |
| FIGURE n° 49 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois | P.14 |
| FIGURE n°50 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois | P.14 |
| FIGURE n°51 | Chromatogramme C.G/S.M de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois | P.14 |
| FG n° 52 – FG n° 59 | Spectres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois | P.P.149 |
| FG n° 60 – FG n° 67 | Spectres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois | P.P.157 |
| FG n° 68 – FG n° 75 | Spectres de masse des composés de l'H.E de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois | P.P.165 |

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Grâce à leurs propriétés thérapeutiques et aux riches sources de matières odorantes que leur confèrent les huiles essentielles, composés très utilisés dans divers domaines, les plantes médicinales et aromatiques occupent une place très importante dans le règne végétal.

Appartenant à cette catégorie de plantes, le *Foeniculum* vulgare Miller connu sous le nom de fenouil en français et communément appelé « besbes » par les populations locales est une grande ombellifère à odeur aromatique. C'est une plante originaire de l'est du bassin méditerranéen et de Caucasic [1] et est spontanée et très abondante dans ces régions.

En Algérie, elle est rencontrée couramment aux abords des oueds et aux bords de chemins et s'adapte bien aux sols argileux.

Le fenouil est très utilisé dans le domaine culinaire notamment comme aromate pour le poisson et les olives et également en médecine traditionnelle

En effet, on lui reconnaît des pouvoirs antispasmodiques et on lui attribue une action diurétique. Il est également utilisé pour les affections des paupières et des yeux, contre les lourdeurs d'estomac et dans les inflammations des muqueuses internes.

Ses huiles essentielles ont un large domaine d'utilisation notamment dans les industries pharmaceutique, alimentaire et cosmétologique [2]

Dans le but d'une valorisation des plantes médicinales et aromatiques, nous nous sommes proposés d'étudier l'espèce *Foeniculum* vulgare Miller de l'ouest algérien, plante spontanée et très répandue dans cette région.

Cette étude a pour objectif également de contribuer à l'analyse des huiles essentielles de cette plante et d'estimer les valeurs nutritionnelles de cette dernière par ses composés lipidiques, protéiques et par ses glucides et également d'apprécier sa toxicité par les coumarines et les tanins. La qualité nutritionnelle est testée sur des rats de souche « wistar ».

Ce travail est mené en quatre parties.

La première partie donne un descriptif assez succinct de la botanique de la plante, de son utilisation et de l'importance des plantes médicinales dans l'équilibre économique.

La deuxième est consacrée à l'étude de l'huile essentielle du fenouil et des conditions de sa conservation. Elle consiste en la connaissance de l'évolution de caractères chimiques de l'huile essentielle de fenouil provenant de différentes régions (Nédroma, Honaine, Beni-Oursous) en fonction de la température au cours du temps.

La troisième partie porte sur la connaissance de la composition chimique de la plante entière (graines, tiges, racines) issue des différentes zones d'étude c'est-à-dire sur la détermination des métabolites primaire et secondaire de cette dernière afin d'apprécier ses valeurs nutritionnelles et sa toxicité lorsqu'elle est administrée à l'animal comme régime alimentaire.

Pour conclure notre travail, une quatrième partie donne une analyse de l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* Miller utilisant la chromatographie en phase gazeuse dans un premier temps et, dans un deuxième temps, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) de deux échantillons (provenant de Honaine et Béni-Ouarsous) conservés pendant six mois aux températures de 4°, 27°C et 45°C aux fins de suivre la variation de la composition chimique de chacun d'entre-eux.

PREMIERE PARTIE

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I - Présentation générale de la plante

I.1 - HISTORIQUE

Fenouil vient du mot FENICULOS qui signifie petit foin en raison de l'aspect linéaire de ses feuilles et de son odeur aromatique [3], [4].

Foeniculum vulgare mill connu sous le nom de fenouil en français et communément appelé «besbes», «nafâa» ou «dibcha» [5] par les populations locales est une apiacée médicinale et aromatique. Il est originaire de l'est du bassin méditerranéen et de Caucasic [1].

Ses usages culinaires et médicaux remontent à l'antiquité car très utilisé comme aromate et épice dans les mets par les grecs et les romains et fort recommandé comme diurétique, pour le traitement des yeux et pour la lactation par les grecs et les chinois [6]. Il a été introduit en Europe par Charlemagne vers la fin du VIIIème siècle [7].

I.2 - PRESENTATION GENERALE DU FOENICULUM VULGARE MILLER

I.2.1 - Description botanique

Le fenouil est une plante annuelle, bisannuelle ou vivace à odeur agréablement aromatique et anisée et une saveur sucrée légèrement épicée [8]. Ses racines fusiformes et allongées sont rondes et blanchâtres. La tige qui peut atteindre 2 mètres de haut est cylindrique, dressée, striée, ramifiée et de couleur verte-bleue. Les feuilles sont vertes foncées et découpées en lanières filiformes. Les fleurs jaunes foncées apparaissent de juillet à septembre et sont regroupées en ombelle terminale. Le fruit est un diakène vert jaune qui renferme des graines ovales (figure n °1,2a,2b,2c) [7], [8] et [9].



Figure n°1 : Représentation schématique du *Foeniculum vulgare* mill.



Figure n° 2 a : Graines de *Foeniculum vulgare* Mill.

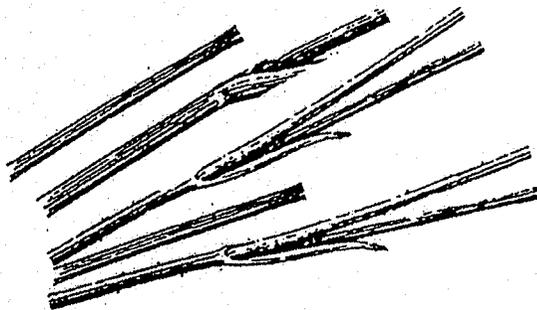


Figure n° 2 b : Tiges de *Foeniculum vulgare* Mill.

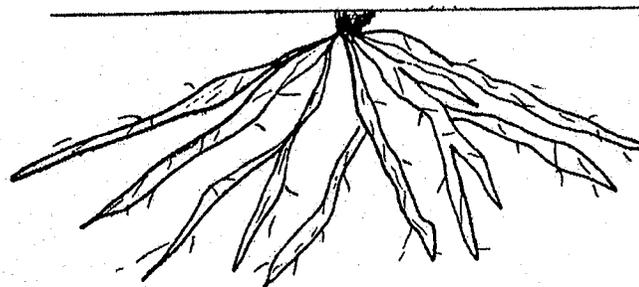


Figure n° 2 c : Racines de *Foeniculum vulgare* Mill.

I.2.2 - Classification

Le fenouil est une espèce très polymorphe dont on distingue deux sous-espèces :

- La sous-espèce *Piperitum* (ou fenouil d'âne) :

Elle est non cultivée et caractérisée par des segments glauques généralement courts et charnus et par l'essence des fruits principalement constituée de monoterpènes [10].

- La sous-espèce vulgare :

Elle renferme trois variétés [10] :

- la variété vulgare ou fenouil amer correspondant à des fenouils sauvages ou cultivés pour l'obtention du (E) - anéthole principe des boissons anisées présentant des pétioles verts qui partent de la base des bulbes ainsi que des feuilles très découpées à leur extrémité,
- la variété *azoricum* ou fenouil bulbeux se caractérise par le renflement des gaines des feuilles inférieures. Il est cultivé comme légume et non comme épice et est connu sous le nom de fonicchio ou fenouil de florence,
- la variété douce ou fenouil doux a des fruits de goût plus agréable. Il présente des feuilles vertes et sa partie bulbeuse est plus renflée que celle du fenouil amer.

Il est à noter que la distinction sur le terrain entre les deux sous-espèces *Piperitum* et vulgare est difficile et des formes intermédiaires pourraient exister.

I.2.3 - Systématique

Le fenouil était dans un premier temps rattaché au genre *anethum* puis séparé par De Candolle et placé dans un nouveau genre dénommé *Foeniculum*, genre adopté par l'ensemble des botanistes (*Foeniculum* était le nom donné au fenouil par les romains et dérive du mot *foenum* qui signifie foin en latin). Au moyen âge, la plante était connue sous le nom « *fanculum* » qui a donné naissance à son nom populaire alternatif « *fenkel* » [11].

Lawrence B.M. [12] en 1980, a classé le fenouil de la façon suivante

- embranchement : phanérogames
- sous-embranchement : angiospermes
- classe : dicotylédones
- sous-classe : gamopétales

ordre : ombellales
famille : ombellifères
genre : *Foeniculum*
espèce : *Foeniculum vulgare* mill

Une classification plus récente est donnée par Vogel G. et Angermann H. en 1998 [13].

super-règne : eucaryotes
division : cormobiontes (plantes vasculaires)
phylum : spermatophytes (plantes à graines)
sous-phylum : angiospermes (graines protégées par un fruit)
classe : dicotylédones
ordre : araliales (ombelliflorales)
famille : ombellifères (3000 espèces)
genre : *Foeniculum*
genre - espèce : *Foeniculum vulgare* mill.

I.2.4 - Habitat et origine

Le fenouil est originaire de l'est du bassin méditerranéen et de Caucasic [1] où il pousse à l'état spontané dans les champs et sur les collines. Il est également rencontré aux abords des oueds et aux bords des chemins et s'adapte bien aux sols calcaires, argileux et pas trop secs. De nos jours, en Europe, en Asie, dans certaines régions d'Afrique et en Amérique, il est surtout cultivé à des fins médicinales [14].

II - Travaux antérieurs

De nombreux chercheurs portèrent leur intérêt sur la médecine par les plantes : la phytothérapie (du grec « phuton », plante et « therapenein » soigner).

En effet depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure des médicaments grâce à la richesse de ce qui est appelé métabolisme secondaire. Ce dernier produit des molécules variées permettant aux plantes de contrôler leur environnement animal et végétal [15].

Une de ses branches principales, sinon la principale, est le mode de traitement qui utilise les huiles essentielles ou essences des plantes : l'aromathérapie (du grec « arôma », parfum et « therapenein », soigner) [16]. A titre d'exemple, bon nombre de préparations antiseptiques sont à base d'essences de plantes aromatiques lesquelles, grâce à leurs

propriétés antimicrobiennes, trouvent des applications pratiques dans plusieurs domaines différents.

II.1 - INTERET PHYTOTHERAPEUTIQUE ET PRINCIPES ACTIFS EN PHYTOTHERAPIE

Les plantes médicinales doivent leurs actions à un ou plusieurs principes actifs appartenant au métabolisme secondaire parmi les plus importants les alcaloïdes, les hétérosides, les tanins, les vitamines et certains composés qui renferment les essences et dont les effets thérapeutiques sont remarquables [17]. Nombreux parmi ces principes actifs sont utilisés tels quels mais d'autres subissent des transformations chimiques (hydrogénation, méthylation, oxydation, acétylation) dans le but d'obtenir des composés plus stables ou moins toxiques [18]. L'action de la plante n'est pas toujours celle du produit pur isolé. Le médicament végétal est généralement mieux toléré par l'organisme que de nombreuses substances de synthèse physiologiquement très actives mais dont les effets secondaires sont parfois indésirables [18]

II.2 - PROPRIETES THERAPEUTIQUES ET DOMAINES D'UTILISATION

Les propriétés du fenouil sont en général analogues à celles de l'anis, du carvi et de la coriandre [19]. Néanmoins, certaines propriétés sont attribuées à la plante alors que d'autres à son huile essentielle.

- Plante entière

Comme il a été signalé précédemment, le fenouil est une plante médicinale de la plus haute antiquité. Anciennement, il était utilisé pour traiter l'indigestion, les troubles gastriques et les coliques. On lui attribuait également une action dans le traitement des maladies des yeux, de la goutte et pour la stimulation de l'écoulement du lait maternel [6], [19].

Actuellement, le fenouil est encore utilisé en médecine populaire pour ses effets antispasmodique, carminatif, diurétique, expectorant, laxatif, stimulant et stomachique [20], [21],[22].

Les tisanes au fenouil sont indiquées pour le traitement des bronchites, des angines et du rhume. Elles sont parfois utilisées contre la rage des dents [8].

Les racines en décoction se révèlent excellentes contre les règles douloureuses [23] et facilitent les fonctions d'éliminations rénales et digestives et traitent les diarrhées douloureuses [24].

L'action de l'extrait des graines de fenouil administré oralement provoque une augmentation du volume de la glande mammaire et une stimulation de sécrétion de lait chez la ratte [25].

Par ailleurs, l'effet diurétique et hypotensif des extraits aqueux du *Foeniculum vulgare* mill a été confirmée par une étude récente menée sur des rats hypertendus en 2001 [26].

Karnik C.R (1994) [27] a montré l'effet bénéfique du fenouil contre la colique chez l'enfant en bas âge et l'explique par la présence de l'anéthole dont la structure chimique est semblable à celle d'un produit chimique naturellement présent dans le corps humain appelé dopamine et connu pour avoir une action de détente sur l'intestin.

La médecine vétérinaire utilise fréquemment les fruits de fenouil comme aromate pour certaines pâtes médicamenteuses, pour augmenter les sécrétions lactées, calmer les coliques et stimuler l'appétit chez les bêtes [28].

Il est à noter que le fenouil sert à parfumer les mets comme le poisson, les omelettes et les olives [29] et est utilisé dans les industries pharmaceutique, cosmétologique et alimentaire [2].

- Huile essentielle

Les huiles essentielles sont assimilées par voies interne ou externe. Dans les deux cas, elles diffusent rapidement au travers des membranes du corps et pénètrent profondément les tissus pour se répandre dans le système circulatoire et par là même dans tout le corps [30].

- Vertus thérapeutiques et autres usages

Selon Valnet [19] les essences ont les mêmes propriétés et mêmes indications que la plante. Elles représentent en effet la partie la plus riche et la plus active de part sa composition chimique très variée renfermant ainsi la majorité des principes actifs qui confèrent à la plante ses principales vertus. Elles sont utilisées dans le traitement de la composante douloureuse des troubles fonctionnels digestifs et indiquées surtout dans les cas de ballonnement, constipation, nausée et pour faciliter la lactation [24], [30].

L'huile essentielle est considérée également comme un agent oestrogénique actif en raison de la présence d'anéthole. En effet des travaux menés par Albert [31] suggère que les agents pharmacologiquement actifs sont des polymères d'anéthole .

L'effet inhibiteur que possède le limonène vis-à-vis des tumeurs mammaires chez les rattes a été constaté par Elegehede en 1984 [32]. Aussi, d'après Duke (1985) [33] il posséderait également une action insecticide.

L'essence de fenouil est utilisée dans les cosmétiques, les produits pharmaceutiques, les parfums, la fabrication des liqueurs, les dentifrices et dans l'industrie alimentaire comme additif [2], [22].

○ Effets secondaires

La substance active des plantes médicinales administrée à des doses correctes est mieux assimilable par l'organisme et ne présente pas d'effets nocifs [7] car les essences naturelles utilisées en surdoses sont susceptibles d'être toxiques. En effet, si les huiles essentielles possèdent de bons pouvoirs thérapeutiques, il convient de les utiliser avec prudence car étant insolubles dans l'eau, elles peuvent provoquer des brûlures buccales et gastriques sérieuses et être toxiques en raison de certaines fonctions chimiques qu'elles renferment dans leur usage interne. En usage externe, elles sont quelquefois caustiques et déclenchent des réactions allergiques ou des irritations de la peau lorsqu'elles sont abusivement utilisées .

Aucune réaction toxique aigue ou chronique chez l'homme n'a été rapportée quant à l'utilisation de son essence à des doses raisonnables. Ainsi, chez les animaux de laboratoire auxquels il a été administré 3 grammes d'extrait de fenouil par kilogrammes de poids, aucun signe de toxicité n'a été manifesté [34].

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DU FENOUIL

Selon l'utilisateur (botaniste, chimiste, parfumeur ou pharmacologue) qui en fait l'étude, la notion d'huile essentielle prend plusieurs sens différents [35].

Connues sous le nom d'essences végétales, les huiles essentielles sont des substances volatiles, odorantes, incolores ou légèrement teintées, inflammables et s'altérant facilement à l'air. Elles sont contenues dans les organes des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, graines) [36].

Elles sont définies comme étant des produits odorants obtenus à partir des matières premières d'origine naturelle soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de péricarpes de citrus ou par distillation à sec. Elles sont séparées de la phase aqueuse par des procédés physiques A.F.N.O.R. (NF T 75-006) (1998) [37]. Elles peuvent subir des traitements physiques sans changement significatif de leurs compositions.

La différence essentielle entre les huiles essentielles et les huiles fixes et les graisses végétales réside dans le fait que les essences sont très volatiles et souvent associées à d'autres substances telles que les gommes et les résines et tendent elles-mêmes à se résinifier par exposition à l'air [38].

I - ETUDE DES HUILES ESSENTIELLES DE FENOUIL DES DIFFERENTES STATIONS

I.1 - ZONES D'ETUDES

Notre plante a été cueillie dans trois stations de l'ouest algérien différentes par leur situation géographique, leur climat et la texture de leur sol. Ces trois stations sont Nédroma, Honaine et Béni-Ouarsous.

I.1.1 - Situation géographique

La situation géographique de chacune des stations est caractérisée comme suit :

- la station de Nédroma appartient au secteur pré-littoral avec une latitude de 35°15' nord. une longitude de 1°55' ouest et une altitude de 600 mètres.

La végétation dans cette zone est caractérisée par un matorral de chênes lièges avec une trouée de chênes verts [39],

- la station de Honaine appartient au secteur littoral avec une latitude de 35°25' nord, une longitude de 1°42' ouest et une altitude de 100 mètres.

La végétation est cette fois caractérisée par un matorral de pins d'Alep et de thuya avec un couvert végétal à proximité du littoral,

- la station de Béni-Ouarsous appartient au secteur pré-littoral (semi continental) avec une latitude de 35°10' nord, une longitude de 1°48' ouest et une altitude de 500 mètres. Un matorral élevé et moyen de thuya (arâar) caractérise la végétation dans cette zone.

Un aperçu de la localisation de ces trois stations est donné par les figures n° 3 et 4.

I.1.2 - Climatologie

Le climat , par sa pluviométrie en quantité et en répartition, ses variations de température, sa luminosité et ses vents avec leurs forces et leurs pouvoirs desséchants rend possible certaines végétations et en interdit d'autres [40] . L'influence de climat est donc très importante et apporte très certainement des renseignements fort intéressants.

Dans notre cas, on se limitera à donner quelques caractéristiques d'ordre général pour chacune des stations d'étude (figure n° 5).

- Nédroma présente un climat semi continental et se situe dans l'étage semi-aride à hiver tempéré. Les précipitations relevées sont de 350 mm/an (gelée rare).
- Honaine présente un climat méditerranéen et se situe dans l'étage semi-aride à hiver chaud avec une influence maritime en raison de sa proximité du littoral. Les précipitations annuelles sont de 330 mm (pas de gelée).
- Béni-Ouarsous comme Nédroma, présente un même climat (semi continental) et se situe également dans le même étage (semi-aride à hiver tempéré). L'influence maritime n'est pas prononcée et les précipitations sont de 340 mm/an (gelée rare).

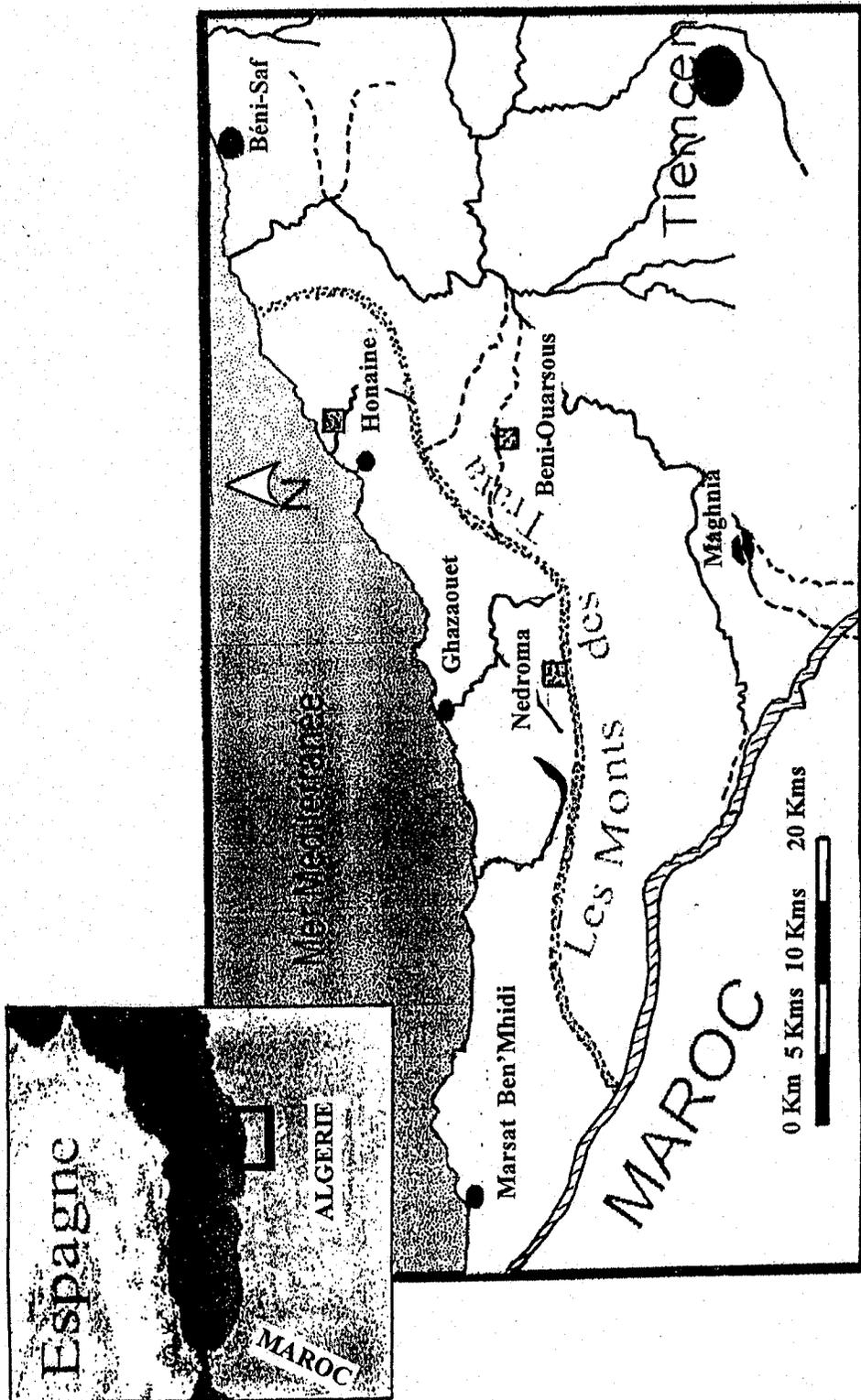


Figure n° 3 Carte de situation

LOCALISATION DE LA ZONE D'ETUDE (NEDROMA, HONAINE, BENI-OUARSOUS)

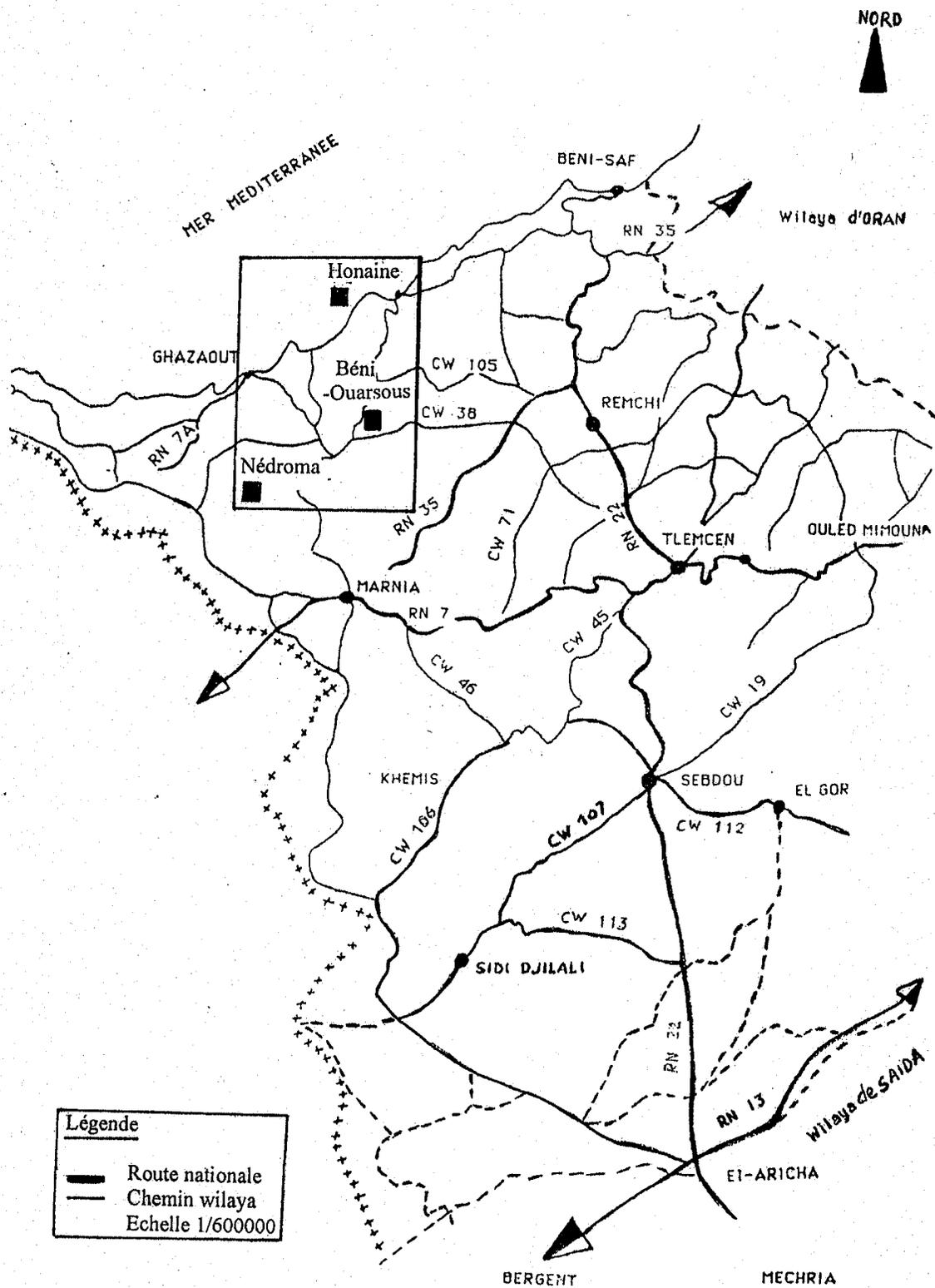
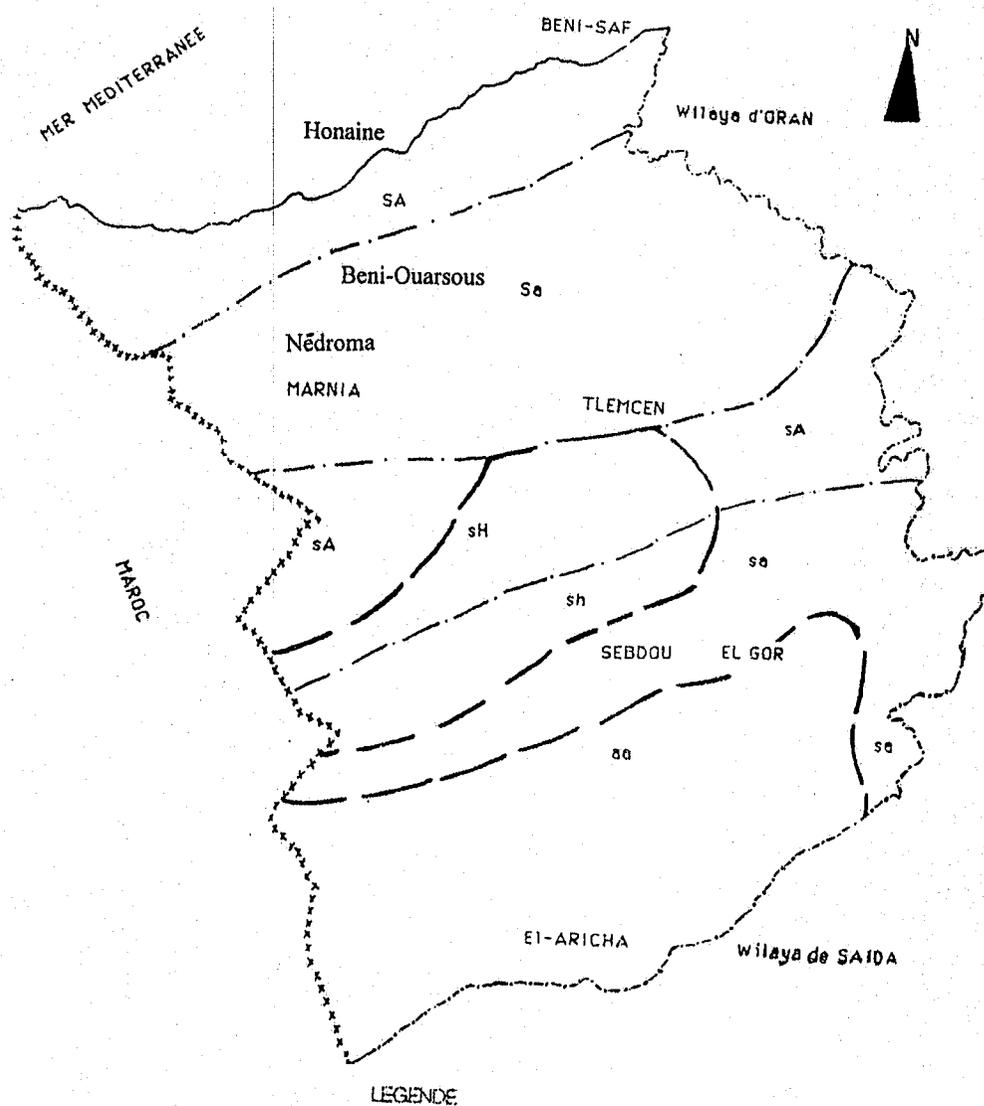


Figure n°4 : Situation géographique de la Wilaya de Tlemcen



LEGENDE

| ETAGES | SOUS ETAGES | | | |
|------------|-------------|-------|------|-------|
| | FROID | FRAIS | DOUX | CHAUD |
| HUMIDE | hh | hH | Hh | HH |
| SUB-HUMIDE | Ss | sH | Sh | SH |
| SEMI-ARIDE | ss | sA | Sa | SA |
| ARIDE | aa | aA | Aa | AA |
| SAHARIEN | | | | |

Limite d'étage bioclimatique -- Limite de sous-étage - - -

Figure n°5 : Carte bioclimatique de la Wilaya de Tlemcen (service des forêts).
Echelle 1/800000

I.1.3 - Substrat et pédologie

Les sols dans cette région sont de deux types : les sols zonaux et azonaux.

Les sols zonaux renferment des sols insaturés, calcaires et des sols en équilibre.

Les sols azonaux se trouvent généralement au bord du littoral sous forme alluvionneux (sols de marais et de type dunaire).

La station d'étude de Nédroma est caractérisée par des sols zonaux ou en équilibre. Le substrat au sommet est de formation calcaire ou dolomie. Au piedmont le sol est alluvionneux ou d'apport.

La station d'étude de Honaine présente le même type de sols que précédemment sauf que ces derniers renferment des sols insaturés sur substrat calcaire ou argilo-marneux.

La station d'étude de Béni-Ouarsous comme les deux précédentes présente un même type de sol selon les affleurements géologiques (différenciation de roches sédimentaires et métamorphiques) sur substrat argilo-marneux ou plus ou moins limoneux.

Le tableau N° I regroupe les quelques caractères généraux cités précédemment.

| Stations | Propriétés | Nedroma | Honaine | Beni Ouarsous |
|----------------------------------|-----------------------|---|---|---|
| Localisation géographique | Secteur | Semi continental | Littoral | Semi continental |
| | Latitude | 35° 15' N | 35° 25' N | 35° 10' N |
| | Longitude | 1° 55' W | 1° 42' W | 1° 48' W |
| | Altitude | 600 m | 100 m | 500 m |
| Climatologie | Type de climat | Semi aride à hiver tempéré | Semi aride à hiver chaud | Semi aride à hiver tempéré |
| | Pluviométrie annuelle | 350 mm | 330 mm | 340 mm |
| Substrat et pédologie | Pédologie | Sols zonaux (alluvionneux ou d'apport) | Sols zonaux ou en équilibre | Sols zonaux (selon les affleurements géologiques) |
| | Substrat | Calcaire ou dolomie | Calcaire ou argilo marneux | Argilo marneux ou plus ou moins limoneux |
| Végétation | | Matorral de chênes lièges avec trouée de chênes verts | Matorral de pins d'alep et thuya. Couvert végétal à proximité du littoral | Matorral élevé et moyen de thuya |

TABLEAU N° I : Tableau récapitulatif de quelques caractères généraux des trois stations d'étude [41].

Les stations étudiées, au vu des informations reportées dans le tableau N° I, présentent des différences et de ce fait, la composition chimique ainsi que la teneur en huile essentielle du fenouil cueilli de ces trois stations présenteront sans nul doute quelques différenciations.

I.2 - FACTEURS DE VARIABILITE DES HUILES ESSENTIELLES

De nombreux facteurs peuvent influencer la teneur en huile essentielle d'une plante et par conséquent sa composition chimique. Cela explique donc la multiplicité et la grande variabilité des huiles essentielles [42]. Parmi tous ces facteurs, nous citons les plus importants :

- Origine botanique

La composition d'une huile essentielle est fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'huile d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique [43].

- Origine géographique

Une même plante suivant son biotope donne des chémotypes différents. A titre d'exemple, les fleurs d'un même arbuste, le *canangium odoratum*, fournissent deux huiles essentielles très différentes suivant son aire géographique [44].

- Partie de la plante

La composition et le rendement d'une huile essentielle varient selon la partie de la plante à partir de laquelle elle est extraite [44].

- Cycle végétatif

Pour une espèce donnée, d'importantes variations peuvent se produire au cours du cycle notamment le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle [44].

- Conservation

La conservation concerne la plante avant de subir l'extraction et également l'huile essentielle.

- ❖ Conservation des plantes

Lors de leur conservation, les plantes doivent être séchées à l'air et à l'ombre pendant une période n'excédant pas sept jours. En effet, des modifications physiques et biochimiques dues à l'action de l'air, du soleil et de l'échauffement peuvent influencer sur la qualité de l'huile essentielle [45].

❖ Conservation des huiles essentielles

La composition chimique des huiles essentielles varie durant leur conservation sous l'action de la lumière et de la température ; d'où la nécessité de les conserver dans des flacons opaques, bien scellés et à température appropriée [46].

- Facteurs de l'environnement

Les facteurs écologiques, édaphiques, géographiques ainsi que les conditions climatiques ou parasitismes du végétal ont une influence considérable sur la production de l'huile essentielle [45],[47].

- Procédés d'obtention

Le mode d'extraction peut avoir une influence sur la teneur et la composition chimique d'une huile essentielle en raison de réactions de réarrangements, d'isomérisation, d'oxydation,[9]

I.3 - EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

Les procédés d'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques sont très largement décrits et vulgarisés [38].

Le procédé d'extraction mis en œuvre diffère d'une partie de la plante à une autre (plante entière, fleurs, pétales, feuilles, racines ou fruits) et par conséquent la composition chimique de l'extrait en est affecté [48].

Aussi, le choix du type d'extraction doit permettre de retirer des végétaux les essences aromatiques avec un rendement maximum et de conserver aussi intacte que possible les parfums les plus délicats.

I.3.1 - Procédés d'extraction

Comme méthodes classiques d'extraction, nous pouvons citer :

- La méthode de Moritz ou hydrodistillation : la plante dans ce cas, est au contact de l'eau qui est directement chauffée. Les vapeurs refroidies décantent l'huile essentielle surnageante qui est séparée de la phase aqueuse [9].
- La méthode de Parnas –Wagner : le matériel végétal est cette fois placé sur une grille perforée au dessus de la case de l'alambic et n'est pas au contact de l'eau. Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et séparés de la phase aqueuse par décantation [9], [38].

Ces deux méthodes présentent un inconvénient majeur qui est la possibilité de ne pouvoir traiter qu'une quantité très limitée en poids de matériel végétal d'une part et, d'autre part, utilisent une quantité d'eau limitée et qui conditionne le temps d'extraction.

D'autres méthodes sont utilisées mais peu adaptées aux plantes aromatiques telles l'extraction par effleurage appliquée pour l'extraction des principes odorants des fleurs et l'extraction par solvant utilisant l'appareil de Soxhlet qui fournit, outre les essences, les triglycérides, les cires, les colorants de nature lipidique et les substances sapides (qui ont un goût) [49].

Dans notre cas, nous avons voulu être dans les conditions d'extraction les plus proches de celles utilisées par l'industrie des plantes aromatiques. A cet effet, nous avons utilisé un extracteur élaboré dans notre laboratoire [50] que nous avons adopté à notre plante et qui est une variante de l'extracteur de Marcusson.

Cet extracteur est fabriqué en tôle inoxydable ayant la possibilité de recevoir entre 1 à 5 kilogrammes de matériel végétal. Il fonctionne en continu grâce à un système de retour d'eau des vapeurs condensées dans le bouilleur (Figure n° 6). Il présente les avantages suivants :

- L'utilisation d'une quantité limitée d'eau dans le bouilleur 5 à 7 litres d'eau (à moitié rempli) seulement sont portées à ébullition. Les vapeurs diffusent à travers le vase à plante en entraînant les principes volatils. Ces vapeurs sont condensées au travers du réfrigérant. Le condensat est recueilli dans une ampoule à décanter. Un système de mise à niveau des eaux permet le retour du surplus vers le bouilleur. Seule une très petite quantité équivalente aux vapeurs condensées retourne vers ce dernier. En définitive, l'ébullition des eaux dans le bouilleur n'est pas affectée.
- Le temps nécessaire à l'épuisement des extraits de la plante peut être optimisé par l'opérateur.
- Le temps de charge et de décharge de l'extracteur est relativement court.
- Il est facile à installer dans un laboratoire car relativement léger et peu encombrant.
- Il ne nécessite pratiquement pas d'entretien particulier car suffisamment robuste.

Globalement, cet extracteur très commode pour l'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques, se rapproche le plus des procédés actuellement utilisés dans l'industrie.

Dans le seul but d'évaluer la valeur du rendement en fonction du mode d'extraction, nous avons utilisé également l'extraction assistée par micro-ondes qui consiste à utiliser un four à micro-ondes dans lequel est introduit le matériel végétal sans aucune addition de solvant ou d'eau [51].

Selon ZLOTORZUNSKI [52], CALINESCU [53] et BENJILALI [54], ce procédé d'extraction a comme avantages :

- L'économie de temps : l'extraction est dix à trente fois plus rapide que l'hydrodistillation pour un rendement équivalent et un extrait de composition équivalente.
- L'économie d'énergie : l'énergie de chauffage est utilisée pour le seul réchauffement du produit (pas d'ajout d'eau) et pour l'évaporation d'une partie de l'eau de constitution du produit traité.
- Le débit de produit traité : pour un même débit de produit traité, cette technique nécessite des moyens de capacité moindre que pour l'hydro distillation.
- Une dégradation thermique réduite pour les composés sensibles.
- Une extraction plus aisée : dans certains cas, le ou les produits recherchés (principes aromatiques ou autres) sont difficiles à extraire en utilisant seulement la vapeur d'eau. Le procédé assisté par micro-ondes peut s'avérer le mieux approprié pour l'obtention de ces produits.

Cependant, cette technique sophistiquée d'extraction est très coûteuse.

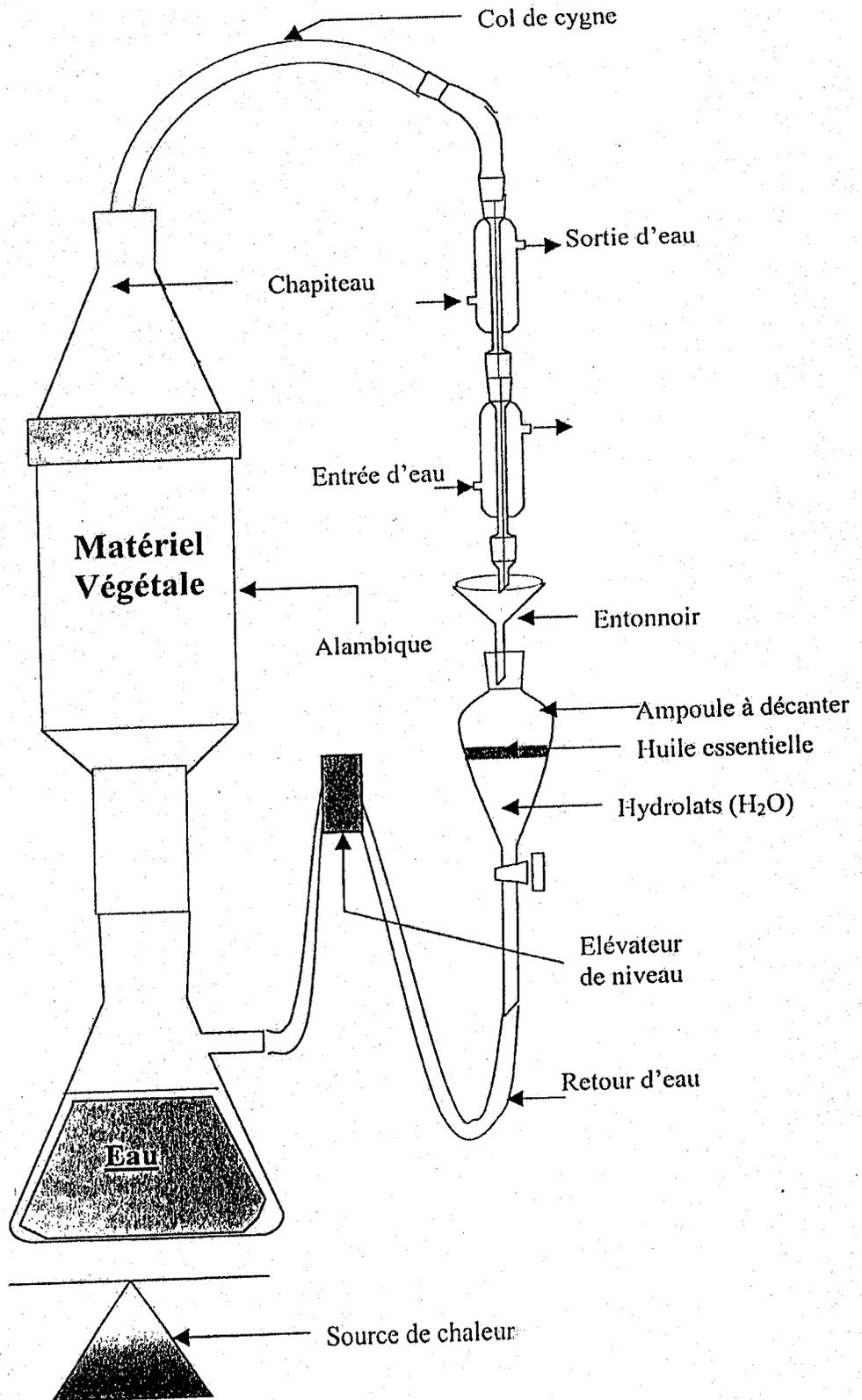


Figure n° 6 : Extracteur type Magnusson utilisé pour l'entraînement à la vapeur d'eau.

I.3.2 - Préparation des échantillons à l'extraction

Dans le souci de respecter au plus les recommandations des normes et des utilisateurs [35], [37], nos échantillons fraîchement cueillis, sont entreposés dans un endroit aéré et ombragé. Le temps de passage à l'extraction doit être le plus court possible. Généralement le stockage des échantillons ne doit pas dépasser trois jours, période qui reste dans les limites acceptables par l'industrie.

I.3.3 - Durée d'extraction

La durée optimale pour extraire la quasi-totalité des huiles essentielles de fenouil et estimée par nos soins est de deux heures et demi. C'est le temps nécessaire pour extraire plus de 90% des essences de notre plante à l'aide de l'extracteur décrit plus haut.

I.4 - TENEURS ET CARACTERISTIQUES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE L'HUILE ESSENTIELLE

I.4.1 - Teneurs en huile essentielle

I.4.1.1 - Entraînement à la vapeur d'eau

Les teneurs moyennes en extraits sont obtenues à partir de quantités de la plante entière (tiges, graines, fleurs, feuilles) comprises entre 1 et 1,5 kilogramme.

Le rendement en pourcentage d'huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'extrait obtenu et la masse de matériel végétal sec à traiter [55].

Les valeurs moyennes des rendements obtenues sont regroupées dans le tableau N°II par période de cueillette et par station d'étude.

| Périodes | Septembre | Octobre | Novembre | Décembre |
|---------------|-----------|---------|----------|----------|
| Nédroma | 0.60 | 0.85 | 1.00 | 1.38 |
| Honaine | 0.98 | 1.53 | 1.82 | 2.15 |
| Béni-Ouarsous | 0.48 | 0.58 | 0.85 | 1.08 |

Tableau N° II : Rendements moyens en pourcent (%) des huiles essentielles par période de cueillette et par station d'étude.

Les valeurs que nous obtenons sont fonction de deux paramètres à savoir la station d'étude et la période de cueillette.

En effet, au vu de ces résultats, il apparaît que :

- La valeur minimum du rendement est obtenue au mois de septembre et la valeur maximum au mois de décembre et ce, pour les trois stations. C'est un résultat auquel il fallait s'attendre car la plante est très jeune au mois de septembre et mature en décembre.
- Le rendement maximum correspond à la station d'étude de Honaine suivi respectivement de ceux de Nédroma et de Béni-Ouarsous. Cela peut s'expliquer par le fait que les deux premières stations citées et notamment celle de Honaine bénéficient d'un climat méditerranéen très prononcé de part leur proximité de la mer méditerranée et du taux d'humidité et de précipitation important.

Les rendements cités par la littérature sont regroupés dans le tableau N°III.

| Origine | Rendement(%) | Références bibliographiques |
|-------------------|--------------|-----------------------------|
| Maroc | 2,57 | [55] , [56] |
| Egypte | 2,71 | [56] |
| Turquie | 2,43 | [56] |
| Pologne | 2,26 | [56] |
| France | 2,10 | [11] |
| Inde | 0,72 | [11] |
| Japon | 2,70 | [11] |
| Algérie (Saf-Saf) | 1,69 | [57] |

Tableau N° III : Valeurs des rendements citées par la bibliographie.

En comparant les valeurs de rendements que nous avons obtenus avec celles de la bibliographie, nous remarquons que la teneur en huile essentielle du fenouil de Honaine reste inférieure à celle du Maroc, d'Egypte, de Turquie, de Pologne et du Japon ; est égale à celle de la France et dépasse celle de l'Inde.

Il est toutefois important de signaler que les conditions opératoires (séchage de la plante, partie de la plante à subir l'extraction, mode d'extraction) ne sont pas signalées dans la bibliographie.

1.4.1.2 - Extraction assistée par micro-ondes

Nous avons dans ce cas utilisé également la plante entière pour l'extraction des huiles essentielles. Le tableau N°IV regroupe les résultats obtenus :

| Périodes | | Septembre | Octobre | Novembre | Décembre |
|---------------|-------------------------|-----------|---------|----------|----------|
| Stations | Temps d'extraction (mn) | | | | |
| Nédroma | 5 | 0,19 | 0,32 | 0,40 | 0,52 |
| | 10 | 0,25 | 0,41 | 0,51 | 0,60 |
| | 20 | 0,10 | 0,26 | 0,30 | 0,43 |
| Honaine | 5 | 0,30 | 0,51 | 0,69 | 0,83 |
| | 10 | 0,48 | 0,79 | 0,88 | ~1,0 |
| | 20 | 0,24 | 0,34 | 0,59 | 0,71 |
| Beni-Ouarsous | 5 | 0,09 | 0,13 | 0,24 | 0,42 |
| | 10 | 0,16 | 0,21 | 0,39 | ~0,50 |
| | 20 | 0,03 | 0,08 | 0,13 | 0,28 |

Tableau N° IV : Rendements moyens en pourcent (%) des huiles essentielles par période de cueillette et par station d'étude.

Au vu de ces résultats, nous constatons que seul le mode d'extraction influe sur la valeur du rendement. En effet, les valeurs obtenues varient dans le même sens en fonction du cycle végétatif et de la zone d'étude (voir tableau N° II).

Aussi, si les teneurs en huile essentielle sont faibles par rapport à celles obtenues par entraînement à la vapeur d'eau, en revanche le temps d'extraction est très court (environ 15 fois plus petit).

On remarquera enfin que les rendements en extraits obtenus après 5 mn et 20 mn sont moins importants que ceux obtenus après 10 mn car pendant les 5 premières minutes l'épuisement en huile essentielle n'est pas total et après 20 minutes il y a surchauffage d'où des teneurs faibles.

Bien que nécessitant un temps d'extraction relativement long, l'entraînement à la vapeur d'eau reste une technique efficace pour l'extraction des huiles essentielles. Pour une économie de la durée d'extraction (environ 10 mn), le four à micro-onde permet d'obtenir des rendements appréciables en huile essentielle mais reste un mode d'extraction très coûteux

I.4.2 - Caractéristiques physiques et chimiques de l'huile essentielle

Les huiles essentielles doivent répondre à des normes analytiques très rigoureuses établies par des commissions nationales et internationales d'experts [58].

Les déterminations analytiques les plus courantes se divisent en :

- caractéristiques physiques,
- caractéristiques chimiques.

I.4.2.1 - Caractéristiques physiques

Bien que leurs constituants diffèrent, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques [59].

- ✓ Elles sont peu solubles dans l'eau à laquelle toutefois elles leur communiquent leur odeur, solubles dans les alcools, dans la plupart des solvants organiques, les huiles fixes et les émulsifiants.
- ✓ Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.
- ✓ Leur densité est en général inférieure à 1.
- ✓ Elles ont un indice de réfraction élevé.
- ✓ Elles sont lévogyres ou dextrogyres mais rarement inactives sur la lumière polarisée.
- ✓ Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.
- ✓ Elles sont altérables, sensibles à l'oxydation et sont donc de conservation limitée.

- ✓ A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaune pâle sauf pour les huiles essentielles à azulène qui sont de coloration bleue.

Nous avons procédé à la détermination de la densité (NFT75-111), de l'indice de réfraction (NFT75-112), du pouvoir rotatoire (NFT75-113), de la miscibilité à l'éthanol (NFT75-101) et du point de congélation (NFT75-102)

I.4.2.2 - Caractéristiques chimiques

Nous avons étudié en particulier les indices d'acide (NFT 75-103), d'ester (NFT 75 -104) et de peroxyde (NFT 60 - 220) [37] considérés parmi les critères les plus importants concernant la qualité d'une essence.

En effet, comme les huiles essentielles sont des éléments assujetties à l'oxydation et donc très facilement dégradables, il est important de connaître les valeurs de ces indices qui sont des paramètres normés et qui par conséquent, peuvent nous fixer sur la qualité d'une huile.

NB : Tous les modes opératoires concernant ces caractéristiques physiques et chimiques sont donnés dans l'annexe I.

I.4.2.3 - Résultats des caractéristiques physiques et chimiques

Les résultats des caractéristiques physiques et chimiques de l'huile essentielle de fenouil fraîchement extraite sont consignés dans le tableau N° V.

| Caractéristiques | H.E de Nédroma | H.E de Honaine | H.E de Béni-Ouarsous |
|-------------------------------|----------------|----------------|----------------------|
| Densité à 20° | 0,859 | 0,895 | 0,881 |
| Indice de réfraction à 20°C | 1,691 | 1,689 | 1,688 |
| Pouvoir rotatoire | +7,5° | +6,2° | +22° |
| Miscibilité à l'éthanol à 90% | 1 :3 | 1 :3 | 1 :2,5 |
| Point de congélation | <-18°C | <-18°C | <-18°C |
| Indice d'acide | 1,98 | 1,42 | 1,68 |
| Indice d'ester | 62,74 | 77,95 | 69,51 |
| Indice de peroxyde | 4800 | 2000 | 3600 |

Tableau N° V : Valeurs des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles de fenouil mature (décembre) des trois stations d'étude.

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentielle de Honaine est la plus dense suivie de celle de Béni - Ouarsous et de Nédroma, qu'elles sont toutes les trois dextrogyres et qu'elles présentent une valeur commune pour le point de congélation. Aussi, les indices de réfraction sont voisins pour les trois échantillons et la miscibilité à l'éthanol diffère uniquement pour la station de Béni-Ouarsous.

| Caractéristiques physico-chimiques | Garnier et al [3] | Osisiogu I.U.W [60] | Nous-Mêmes | | |
|------------------------------------|-------------------|---------------------|------------|---------|---------------|
| | | | Nédroma | Honaine | Béni-Ouarsous |
| Densité à 20°C | 0,950-0,980 | - | 0,859 | 0,895 | 0,881 |
| Indice de réfraction à 20°C | - | - | 1,691 | 1,689 | 1,688 |
| Pouvoir rotatoire | [+6, +24]° | +13° | +7,5° | +6,2° | +22° |
| Miscibilité à l'éthanol à 90% | - | 1 : 5 | 1 : 3 | 1 : 3 | 1 : 2,5 |
| Point de congélation | - | - | <-18°C | <-18°C | <-18°C |
| Indice d'acide | - | - | 1,98 | 1,42 | 1,68 |
| Indice d'ester | - | - | 62,74 | 77,95 | 69,51 |
| Indice de peroxyde | - | - | 4800 | 2000 | 3600 |

TABLEAU N° VI : Valeurs comparatives des caractéristiques physico-chimiques.

Le tableau ci-dessus résumant les valeurs citées par la littérature montre que la densité rapportée par Garnier [3] est supérieure aux nôtres, que le pouvoir rotatoire de nos échantillons est compris dans l'intervalle des valeurs fourni par [3] et que nos huiles essentielles sont plus facilement miscibles à l'éthanol que celles données par la littérature [60].

| Huiles essentielles | Densité à 20°C | IR | PR | Miscibilité à l'éthanol | Pt de congélation | IA | IE | IP |
|---------------------|----------------|---------------------|------------|-------------------------|-------------------|------|-----------|----|
| Aspic | 0.896-0.917 | 1.462 - 1.488 | -7°, +1° | 1 : 1 | - | <3 | 3-15 | - |
| Néroli | 0.866-0.876 | 1.470 - 1.474 | +6°, +11° | 1 : 3 | - | <2 | 28-50 | - |
| Geranium | 0.884-0.905 | 1.460 - 1.477 | -7°, -14° | 1 : 2.5 | - | 4-10 | 31-80 | - |
| Romarin | 0.860-0.920 | 1.466 - 1.475 | -1°, +25° | 1 : 2.5 | - | 1 | 2-20 | - |
| Bergamote | 0.876-0.884 | 1.464 - 1.468 | +8°, +30° | 1 : 1.5 | - | <2 | 86-129 | - |
| Sauge d'Espagne | 0.907-0.930 | 1.465 - 1.472 | -12°, +17° | 1 : 2 | - | <2 | 15-55 | - |
| Anis vert | 0.980-0.990 | 1.552 - 1.559 | -2°, +2° | 1 : 3 | +15°+19.5° | - | - | - |
| Eucalypt. globulus | 0.906-0.925 | 1.459 - 1.467 | 0° ; +10° | 1 : 4 | - | - | - | - |
| Cannelle de chine | - | 1.600 - 1.614 | - | - | - | <15 | - | - |
| Menthe crêpue | 0.884-0.892 | 1.457 -1.465 | -3.5°, 0° | 1 : 2.5 | - | <2 | 110-170 | - |
| Lavande de France | 0.877-0.890 | 1.458 - 1.464 | -11°, -7° | 1 : 3 | - | <1 | 102.5-165 | - |
| Mentha arvensis | 0.889-0.900 | 1.456 - 1.466 | -29°, -15° | 1 : 3 | - | <1 | 5-30 | - |
| Citron | 0.849-0.858 | 1.474 - 1.476 | +57°, +65° | - | - | <3 | - | - |

TABLEAU N° VII : Valeurs de caractéristiques physiques et chimiques de quelques huiles essentielles normées [37].

Comparées aux valeurs regroupées dans le tableau N° VII et relatives aux caractéristiques physiques et chimiques de quelques huiles essentielles normées [37], nos échantillons présentent des densités comparables à celle du romarin, des pouvoirs rotatoires voisins de celui de néroli, du romarin et de la bergamote et des miscibilités à l'éthanol comprises dans l'intervalle des valeurs du néroli, germanium, romarin, anis vert, menthe crépue, lavande de France et mentha arvensis. L'indice d'acide est dans l'ordre de grandeur de ceux de l'aspic, néroli, bergamote, sauge d'Espagne, menthe crépue et citron et l'indice d'ester de celui du géranium.

II - ETUDE DE LA DEGRADATION DE L'HUILE ESSENTIELLE A L'AIDE DE CARACTERISTIQUES CHIMIQUES

II.1 - INTRODUCTION

Très subtiles et volatiles, les huiles essentielles ou essences constituent des mélanges très complexes de composés représentatifs des fonctions et structures les plus diverses et différentes les unes des autres. Cependant, ces composés très « fragiles » pris à l'état individuel ou mélangés à d'autres substances, restent très altérables sous l'action d'agents physiques et chimiques pouvant intervenir lors de la conservation de l'huile. Parmi les plus importants, nous pouvons citer l'action de la température ou de la lumière et également les phénomènes d'oxydation, d'isomérisation ou de polymérisation [60]. En d'autres termes, la qualité d'une huile essentielle est intimement liée aux conditions de stockage lors de sa conservation.

Dans le but de mieux comprendre de tels phénomènes, nous nous proposons d'apporter une contribution à l'étude de la dégradation de l'huile essentielle de fenouil de Nédroma, Honaine et Béni-Ouarsous. Cette étude concerne le suivi de l'évolution de trois indices chimiques à savoir les indices d'acide, d'ester et de peroxyde en fonction de la température au cours du temps. Il est à noter que les indices étudiés figurent parmi les critères de qualité les plus importants d'une huile essentielle.

A cet effet, nos échantillons ont été conservés pendant six mois à l'abri d'air et de lumière dans des tubes hermétiquement fermés et bien enveloppés dans du papier aluminium et ce, à trois températures différentes : 4° C qui est la température admise pour la bonne conservation d'une huile essentielle ; 27° C qui peut être une valeur moyenne convenable d'une température de chambre (18°-36°) et enfin 45°C valeur souvent rencontrée en période très chaude.

II.2. - EVOLUTION DE L'INDICE D'ACIDE

- Nous rappelons que l'indice d'acide (IA) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaires à la neutralisation des acides libres contenus dans un gramme d'huile essentielle ;
- Principe : il s'agit de neutraliser les acides libres par une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium titrée.

L'indice d'acide est donné par la relation :

$$IA = \frac{5,61 \cdot V}{m} \quad \text{où}$$

- V est le volume en millilitre de la solution de KOH (0,1 mole / l) utilisée pour le titrage,
- m est la masse en gramme de la prise d'essai,
- 5,61 g/l correspond à 0,1 mole/l de KOH.

II.2.1 - Huile essentielle de fenouil de Nédroma

Les valeurs des indices d'acide que nous avons obtenues pour l'huile essentielle de Nédroma aux trois températures sont consignées dans le tableau N° VIII

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 4 | 1,98 | 2,04 | 2,11 | 2,22 | 2,39 | 2,50 | 2,61 | 2,60 | 2,69 | 2,75 | 2,78 | 2,79 | 2,80 |
| 27 | | 2,13 | 2,34 | 2,54 | 2,88 | 2,94 | 3,30 | 3,18 | 3,42 | 3,78 | 4,08 | 4,08 | 4,14 |
| 45 | | 2,25 | 2,70 | 2,95 | 3,25 | 3,60 | 4,05 | 4,20 | 4,55 | 4,75 | 5,25 | 5,33 | 5,40 |

Tableau N° VIII : Valeurs des indices d'acide en fonction de la température au cours du temps (Nédroma)

L'indice d'acide de l'huile essentielle de Nédroma croit avec la température au cours du temps (figure n °7). Cette évolution est plus accentuée pour les échantillons conservés respectivement à 45° et 27°C.

Nous remarquons également qu'à partir du 135ème jour, l'IA varie très peu pour rester presque constant quand la température est égale à 4°C. Ce phénomène est observé à partir du 150^{ème} jour pour les températures de 27°C et de 45°C.

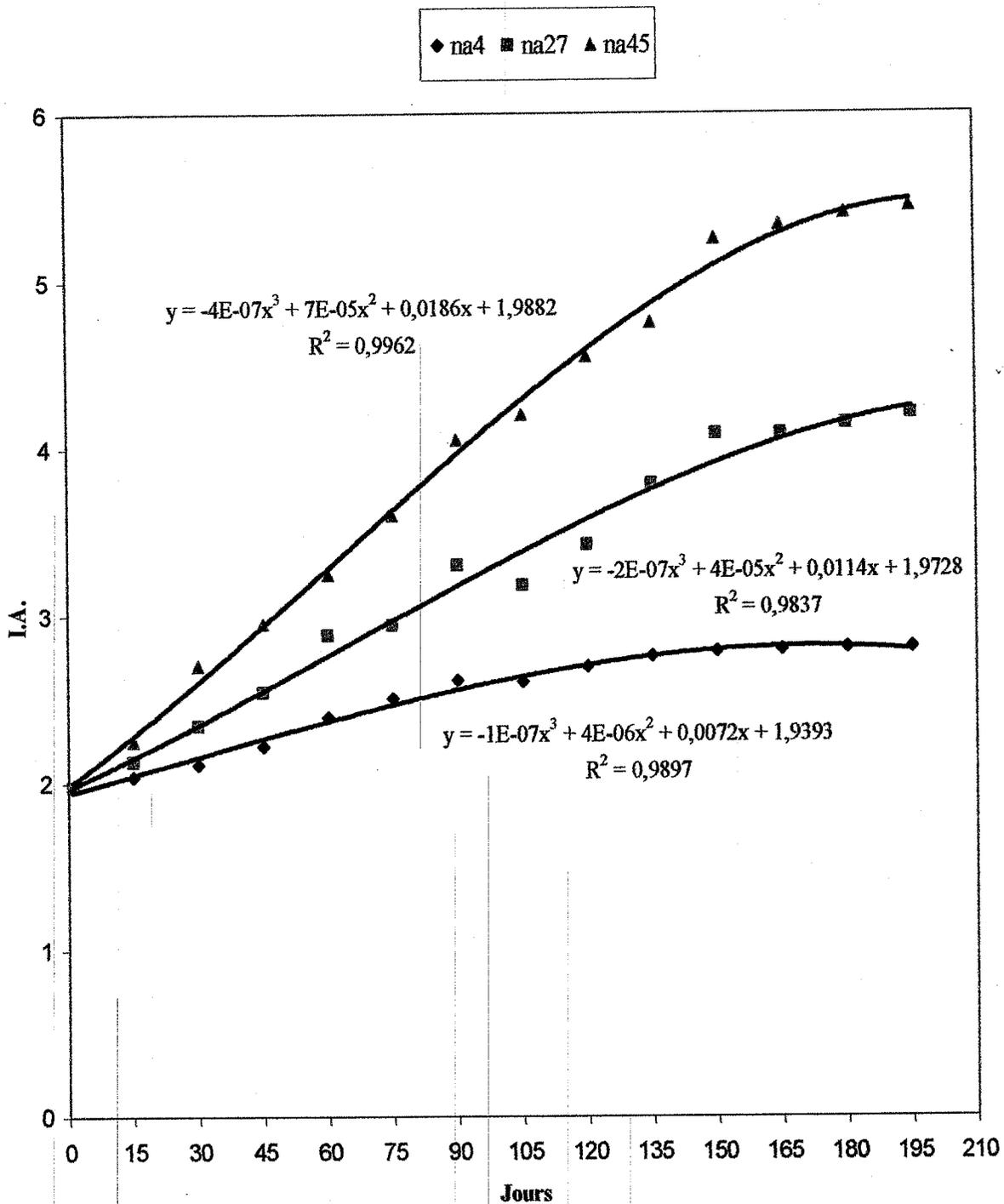


Figure n° 7: Evolution de l'indice d'acide de l'huile essentielle de Fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température

II.2.2 - Huile essentielle de fenouil de Honaine

Le tableau N° IX regroupe les indices d'acide obtenus à partir de l'huile essentielle de Honaine et ce, pour les trois températures considérées.

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 4 | 1,42 | 1,50 | 1,51 | 1,35 | 1,83 | 1,85 | 2,02 | 2,00 | 2,17 | 2,25 | 2,18 | 2,33 | 2,25 |
| 27 | | 1,60 | 2,20 | 1,80 | 2,30 | 2,35 | 2,75 | 3,10 | 3,07 | 3,30 | 3,50 | 3,50 | 3,60 |
| 45 | | 1,75 | 2,33 | 2,10 | 2,65 | 2,85 | 3,25 | 3,40 | 3,50 | 4,10 | 4,25 | 4,20 | 4,35 |

**Tableau N° IX : Valeurs des indices d'acide
en fonction de la température au cours du temps (Honaine)**

L'indice d'acide de l'huile essentielle de Honaine varie d'une manière similaire que celui de l'échantillon de Nédroma et ce, pour les trois températures si l'on se réfère à la figure n° 8.

On constate également une acidité plus marquée pour l'huile prise à 45°C que celles considérées respectivement à 27°C et 4°C lors de leur dégradation.

La même remarque à noter est qu' à partir du 135^{ème} jour et du 150^{ème} jour on constate que l'indice d'acide tend vers une valeur plus ou moins constante quant la température est égale respectivement à 4°C et, à 27°C et 45°C.

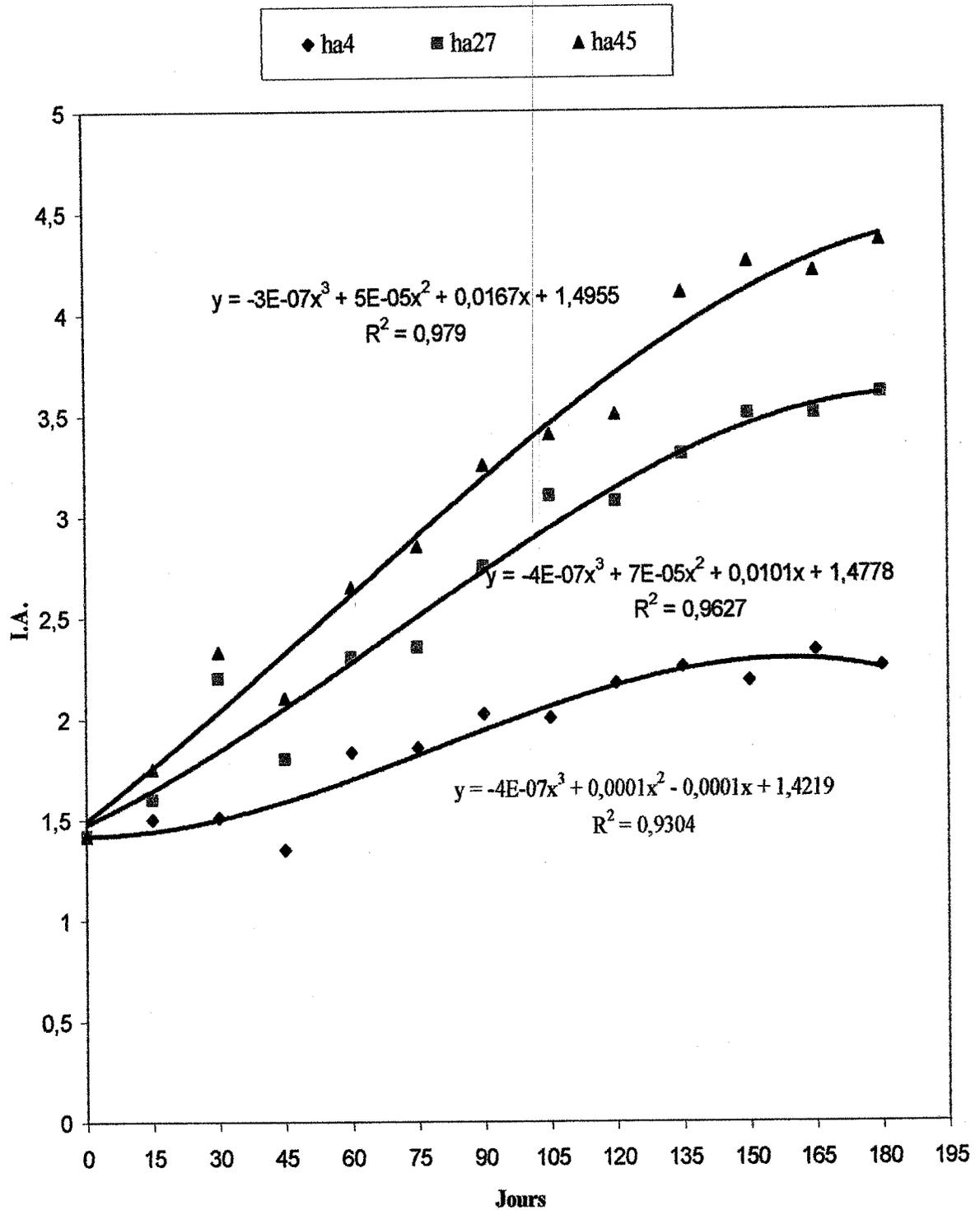


Figure n° 8: Evolution de l'indice d'acide de l'huile essentielle de Fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température

II.2.3 - Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous :

Dans le tableau N° X nous retrouvons les valeurs des indices d'acide que nous avons obtenues à partir de l'huile essentielle du fenouil de Beni-Ouarsous.

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 4 | 1,68 | 1,70 | 1,60 | 1,80 | 2,13 | 2,10 | 2,40 | 2,25 | 2,35 | 2,30 | 2,67 | 2,50 | 2,65 |
| 27 | | 1,75 | 1,95 | 2,10 | 2,65 | 2,75 | 2,90 | 2,85 | 3,25 | 3,55 | 3,75 | 3,65 | 3,70 |
| 45 | | 2,00 | 2,45 | 2,00 | 3,00 | 3,45 | 3,50 | 4,25 | 4,40 | 4,90 | 5,05 | 4,95 | 5,10 |

**Tableau N° X : Valeurs des indices d'acide
en fonction de la température au cours du temps (Béni-Ouarsous)**

Les valeurs regroupées dans le tableau N° X font apparaître une augmentation de l'A.I pour les trois températures considérées.

La figure n° 9 montre une variation (croissance) de l'IA en fonction de la température au cours du temps comme dans les cas précédents.

Comme pour les échantillons de Nédroma et Honaine, celui de Béni-Ouarsous est plus acide à 45°C qu'à 27°C et 4°C lors de la dégradation de l'huile essentielle d'une part, et tend à devenir constant cette fois ci au bout du 135eme jour et ce , pour les trois échantillons.

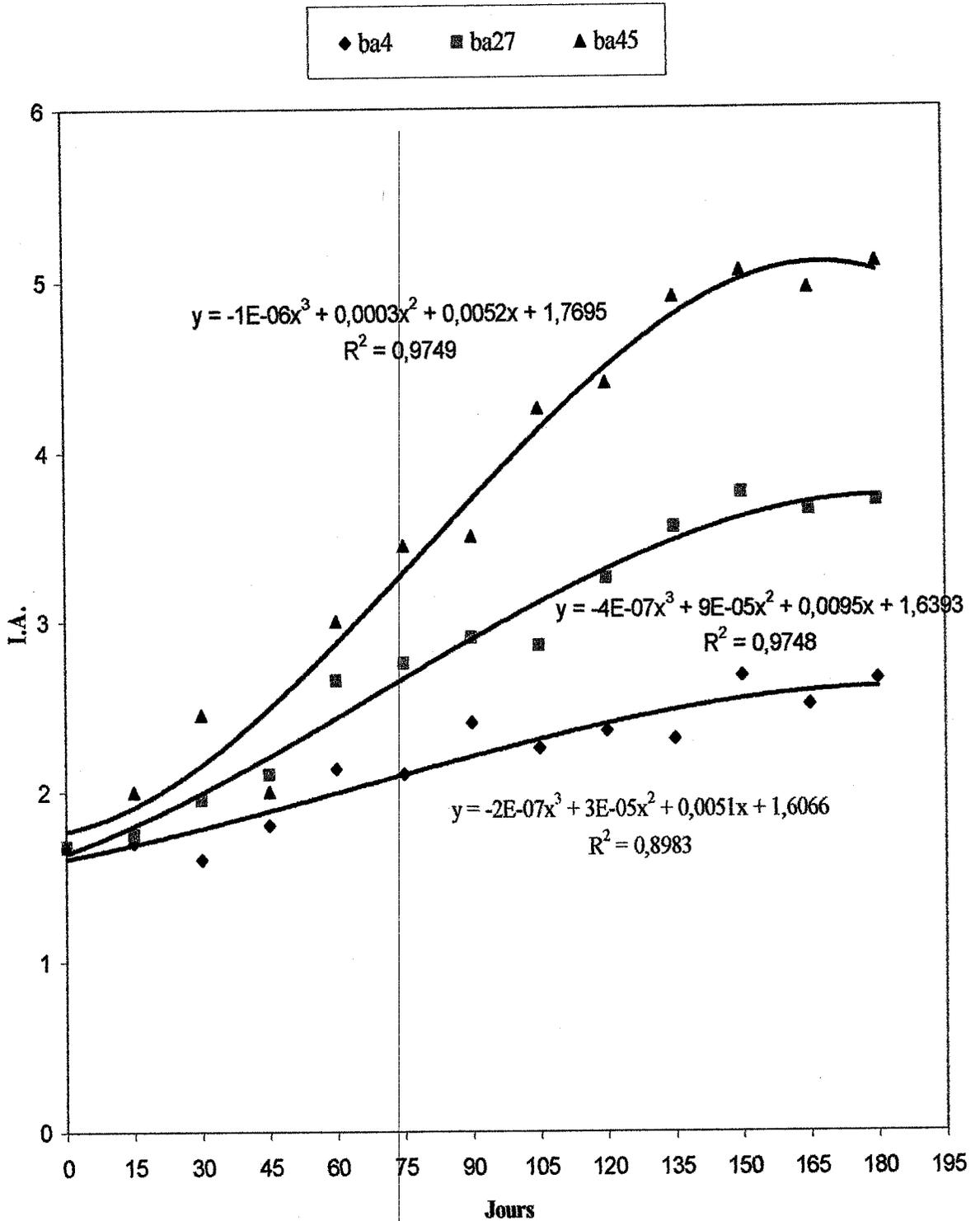
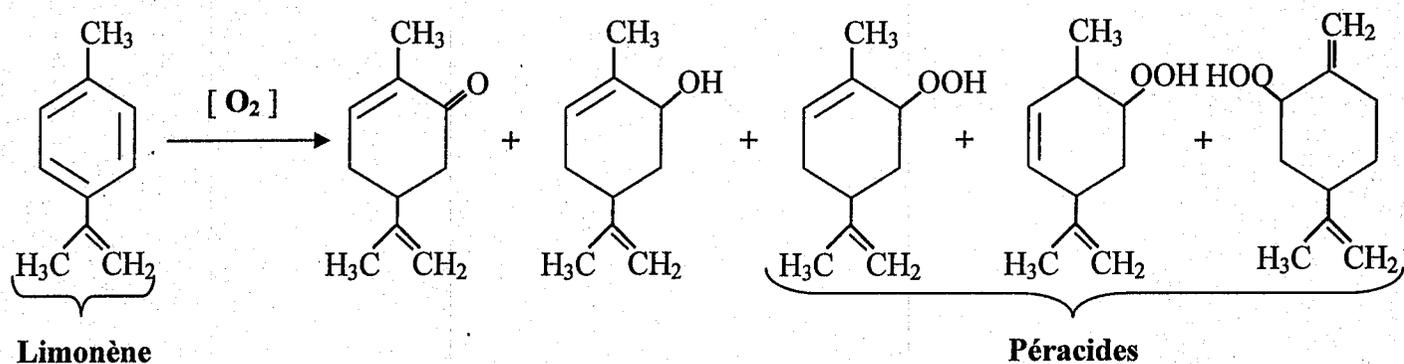


Figure n° 9: Evolution de l'indice d'acide de l'huile essentielle de Fenouil de Beni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température

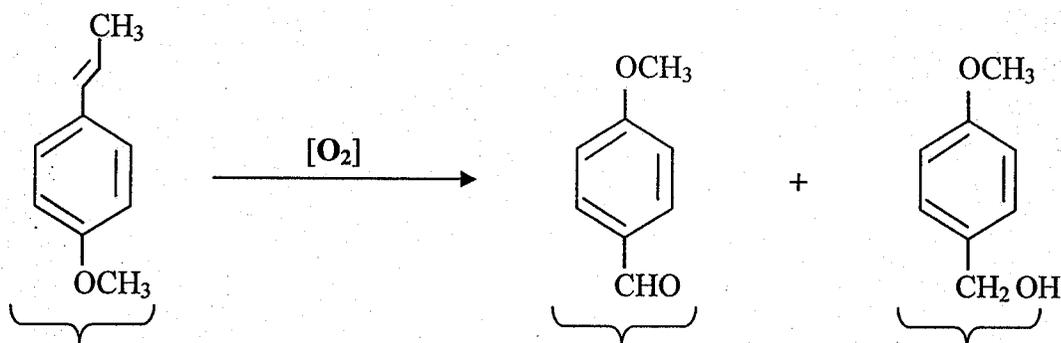
II.2.4 - Discussion et interprétation

Les figures n° 7,8 et 9 montrent un même profil de dégradation pour les trois échantillons d'huile essentielle. En effet, on constate que l'IA croit en fonction de la température au cours du temps. Nous remarquons également que l'échantillon des trois HE pris à la température de 4°C se dégrade moins rapidement que ceux considérés respectivement à 27°C et 45°C. Ceci montre bien que la bonne conservation d'une huile essentielle exige des températures basses (celle de 4°C étant le plus souvent préconisée). Cela peut être expliqué et à titre d'exemple par le fait qu'un des phénomènes qui contribue à la dégradation d'une HE est l'oxydation. Elle agit d'autant plus rapidement sur l'échantillon si ce dernier est pris à une température relativement élevée. Cette oxydation directe ou successive d'alcools, de cétones et d'aldéhydes contenus dans l'huile conduit à la formation d'acides qui confèrent à l'huile un caractère acide.

- Sachant que le limonène est un des constituants principaux de l'huile essentielle de fenouil et selon BULMAN et ZEITSCHER [61], PROCTOR et KENYU [62] et BUCKHOLZ et DAUN [63], nous suggérons la réaction suivante :



- Selon Garuéro J.[64], la réaction d'oxydation du trans-anéthole qui est le produit majoritaire conduit à :



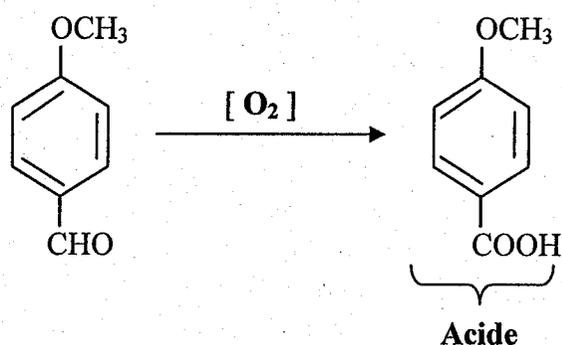
(E) - anéthole

Anisaldéhyde

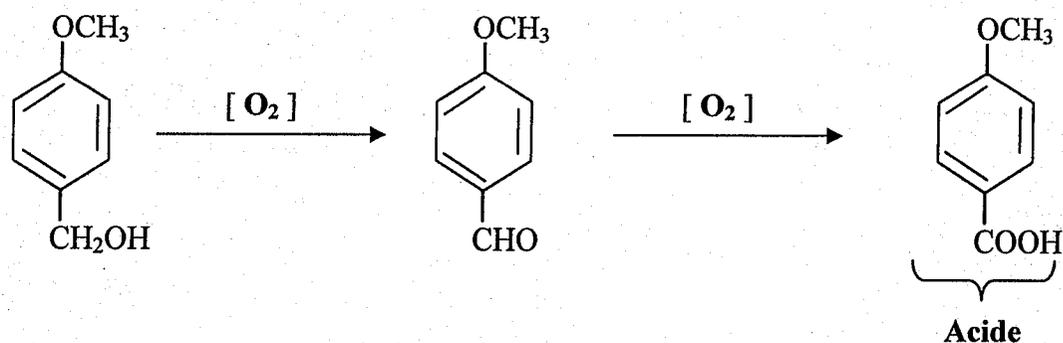
Alcool anique

L'oxydation de l'aldéhyde et de l'alcool obtenus n'est pas citée dans la littérature.

Aussi, si on se réfère aux réactions classiques d'oxydation des aldéhydes et des alcools (ceci n'étant qu'une hypothèse), on peut écrire :



Acide



Acide

Or l'échantillon provenant de la plante de Nédroma présente des valeurs d'IA relativement élevées suivi de celles de Béni-Ouarsous et de Honaine. En d'autres termes, l'huile essentielle issue de fenouil de Nédroma est la plus acide considérée fraîche ou prise au cours de sa dégradation. L'explication vient du fait que les facteurs environnementaux et la nature du sol par exemple peuvent influencer directement sur la plante et sur sa composition chimique.

Il est à noter également qu'à partir du 135^{ème} jour, l'IA tend vers une valeur relativement constante pour l'huile essentielle de Nédroma étudiée à la température de 4 °C alors que pour les températures de 27°C et 45°C on constate cela à partir du 150ème jour (figure n° 7). Ce phénomène se répète de la même manière pour l'échantillon de Honaine (figure n°8) ; pour l'huile essentielle de Beni-Ouarsous, cela est observé à partir du 135ème jour et ce, pour les trois températures (figure n° 9).

Au vu de ces résultats, nous pensons que le seuil d'une valeur constante de l'IA lors de la dégradation de l'huile essentielle doit se situer aux environs du 135ème jour qui représente une période de 4mois et demi à 5mois.

II.3 - EVOLUTION DE L'INDICE D'ESTER

- Pour rappel, l'indice d'ester (IE) est défini comme étant le nombre de milligrammes d'hydroxyde des esters contenus dans un gramme d'huile essentielle.
- Principe : il s'agit d'hydrolyser les esters par chauffage dans des conditions définies en présence d'une solution éthanolique titrée de KOH et de doser l'excès d'alcali par une solution titrée de HCl.
- L'indice d'ester est donné par la relation :

$$IE = \frac{28,05}{m} (V_0 - V_1) - IA \quad \text{où :}$$

- V_0 est le volume en millilitre de la solution de HCL (0.5mole/l) utilisée pour l'essai à blanc,
- V_1 est le volume en millilitre de la solution de HCL (.05mole/l) utilisée pour la détermination de l'indice d'ester de l'huile essentielle,
- m est la masse de la prise d'essai,
- 28.05 g/l correspond à 0.5mole/l de KOH.

II.3.1 - Huile essentielle de fenouil de Nédroma :

Le tableau N° XI regroupe les valeurs des indices d'ester obtenues à partir de l'huile essentielle de Nédroma pour les températures considérées :

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | 78,38 | 75,00 | 73,00 | 68,25 | 63,75 | 54,32 | 52,88 | 48,75 | 44,25 | 35,50 | 27,25 | 25,75 | 23,50 |
| 27 | | 69,38 | 62,25 | 52,50 | 49,50 | 43,88 | 39,00 | 32,25 | 29,25 | 28,88 | 21,75 | 19,72 | 17,35 |
| 45 | | 60,12 | 48,75 | 46,50 | 40,12 | 38,25 | 33,75 | 26,28 | 22,15 | 16,20 | 14,35 | 12,55 | 12,25 |

**Tableau N° XI : Valeurs des indices d'ester
en fonction de la température au cours du temps (Nédroma)**

Au vu des résultats reportés dans le tableau N° XI, nous constatons que l'indice d'ester diminue et ce, pour les trois températures. Cette décroissance n'est pas linéaire.

Nous remarquons également que les écarts entre les IE qui étaient importants au début, tendent à se minimiser et qu'à partir du 150^{ème} jour, les valeurs se rapprochent beaucoup dans les trois cas (T=4°C, 27°C, 45°C) (figure n° 10).

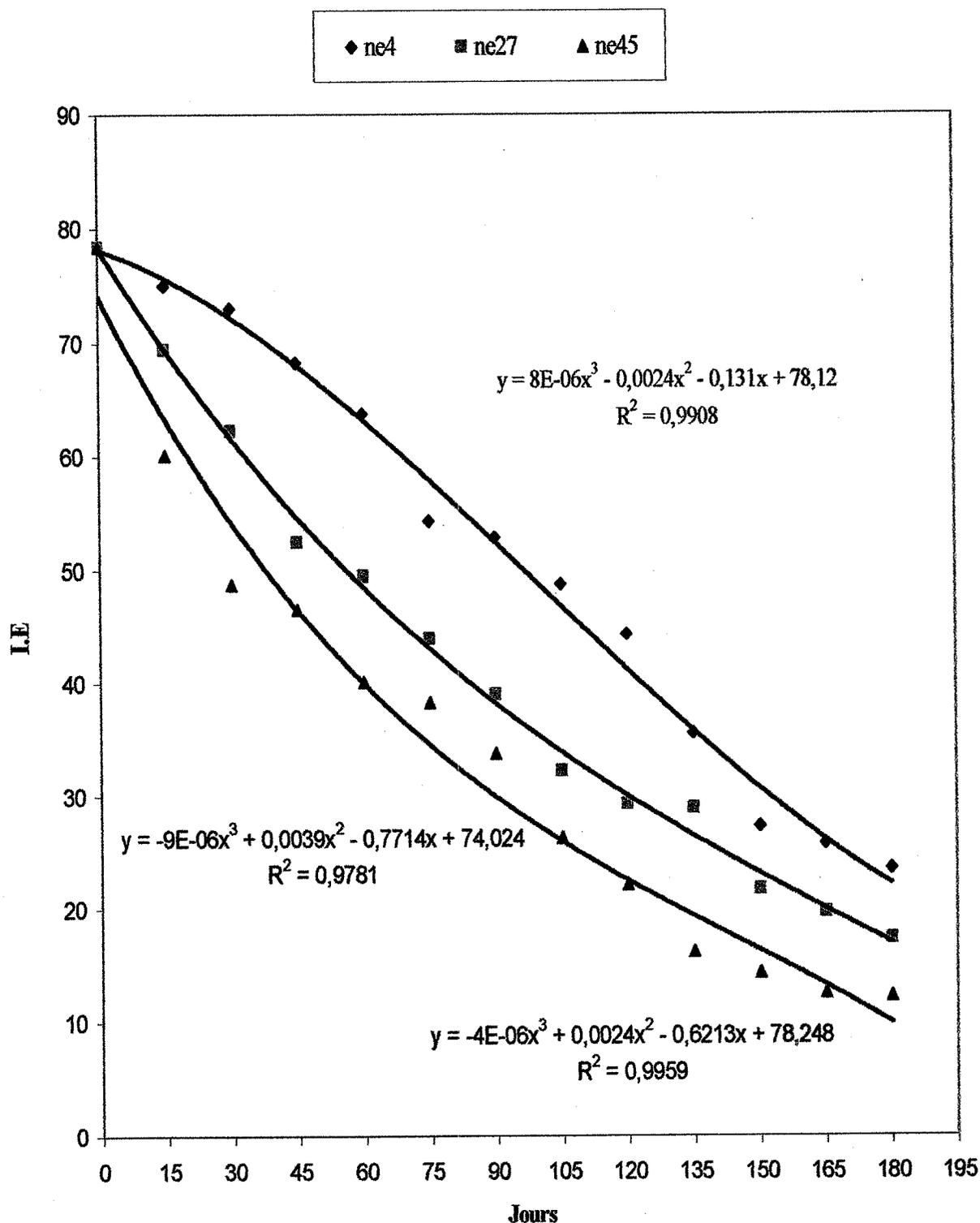


Figure n° 10: Evolution de l'indice d'ester de l'huile essentielle de Fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température

II.3.2 - Huile essentielle de fenouil de Honaine

Les valeurs des IE obtenues pour l'huile essentielle de fenouil de Honaine sont consignées dans le tableau N°XII

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | | 78,75 | 76,12 | 61,13 | 57,38 | 56,25 | 46,13 | 44,25 | 43,50 | 42,75 | 36,15 | 32,63 | 31,15 |
| 27 | 84,45 | 72,75 | 56,25 | 52,50 | 45,10 | 39,00 | 36,20 | 33,25 | 28,00 | 28,80 | 25,25 | 24,00 | 23,75 |
| 45 | | 66,37 | 47,63 | 42,37 | 39,10 | 34,50 | 29,00 | 28,00 | 22,10 | 20,00 | 19,25 | 19,05 | 22,00 |

**Tableau N° XII : Valeurs des indices d'ester
en fonction de la température au cours du temps (Honaine).**

Dans le cas de l'huile essentielle du fenouil provenant de Honaine, l'IE décroît comme dans le cas précédent, Cette diminution se fait d'une manière similaire que pour l'huile essentielle de Nédroma.

Aussi, à partir du 150^{ème} jour les valeurs de l'IE se rapprochent beaucoup, Il n'est pas exclu qu'elles se stabiliseront au-delà de 6mois (figure n° 11).

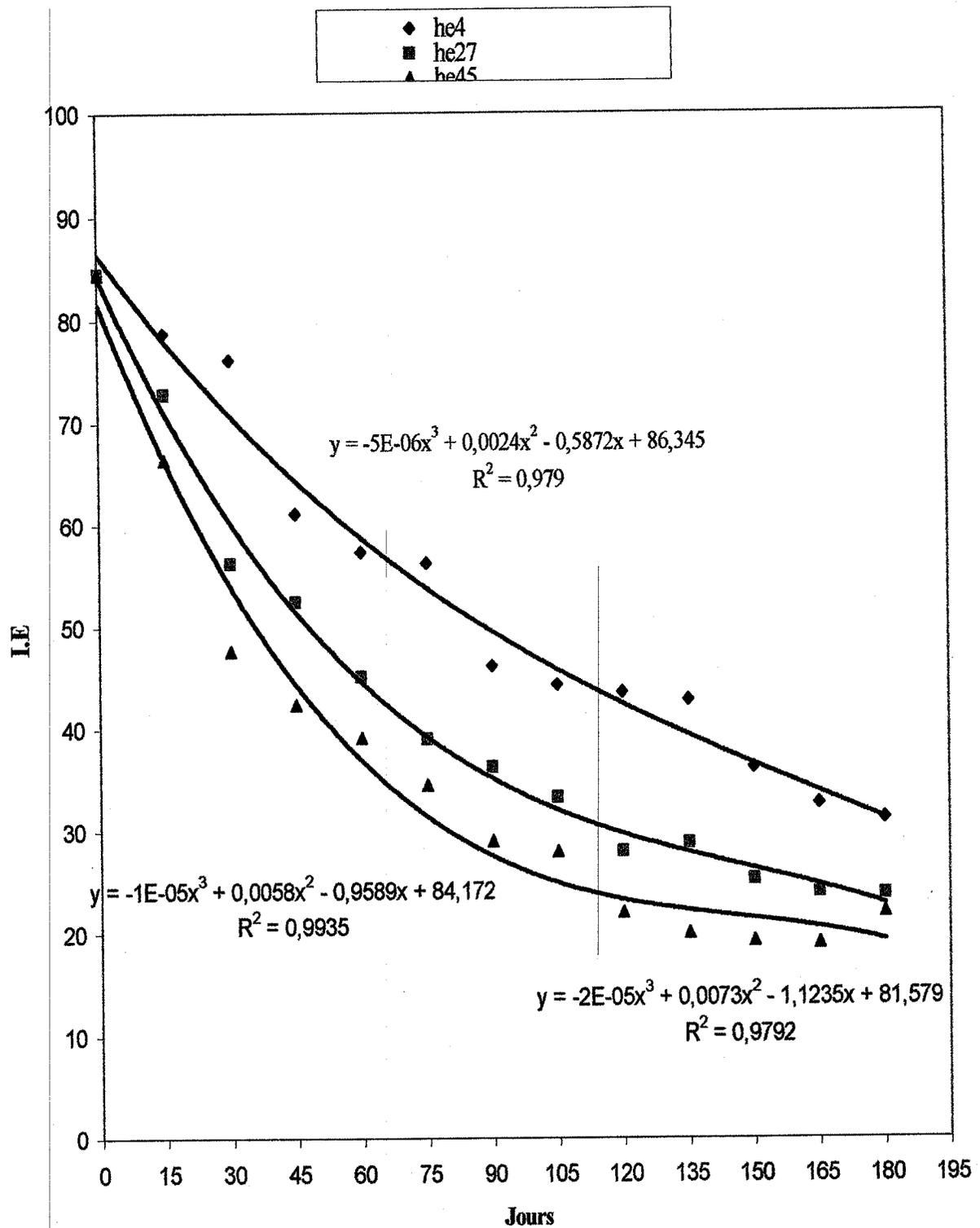


Figure n° 11: Evolution de l'indice d'ester de l'huile essentielle de Fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température

II.3.3 - Huile essentielle de fenouil de Béni Ouarsous

Les valeurs des indices d'ester pour l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous sont regroupées dans le tableau N°XIII :

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | | 77,62 | 69,10 | 67,87 | 60,00 | 57,75 | 48,37 | 46,35 | 38,15 | 27,87 | 25,51 | 23,25 | 20,63 |
| 27 | 83,10 | 71,48 | 64,25 | 50,25 | 51,38 | 47,25 | 38,63 | 28,88 | 25,15 | 21,75 | 19,13 | 17,63 | 16,51 |
| 45 | | 61,12 | 54,38 | 43,88 | 42,00 | 39,37 | 25,37 | 20,25 | 15,00 | 17,48 | 13,13 | 10,50 | 9,12 |

Tableau N° XIII : Valeurs des indices d'ester en fonction de la température au cours du temps (Béni-Ouarsous)

L'indice d'ester de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous évolue d'une manière semblable que les précédents. Les résultats du tableau N° XIII montrent une diminution du dit indice en fonction du temps pour les trois températures considérées. La figure n° 12 fait apparaître parfaitement la non linéarité de l'évolution de l'IE au cours du temps et montre comme dans les cas précédent qu'à partir du 150^{ème} jour que les valeurs de l'indice considéré à 4°C, 27°C et 45°C ont tendance à se rapprocher pour devenir stables après 6mois.

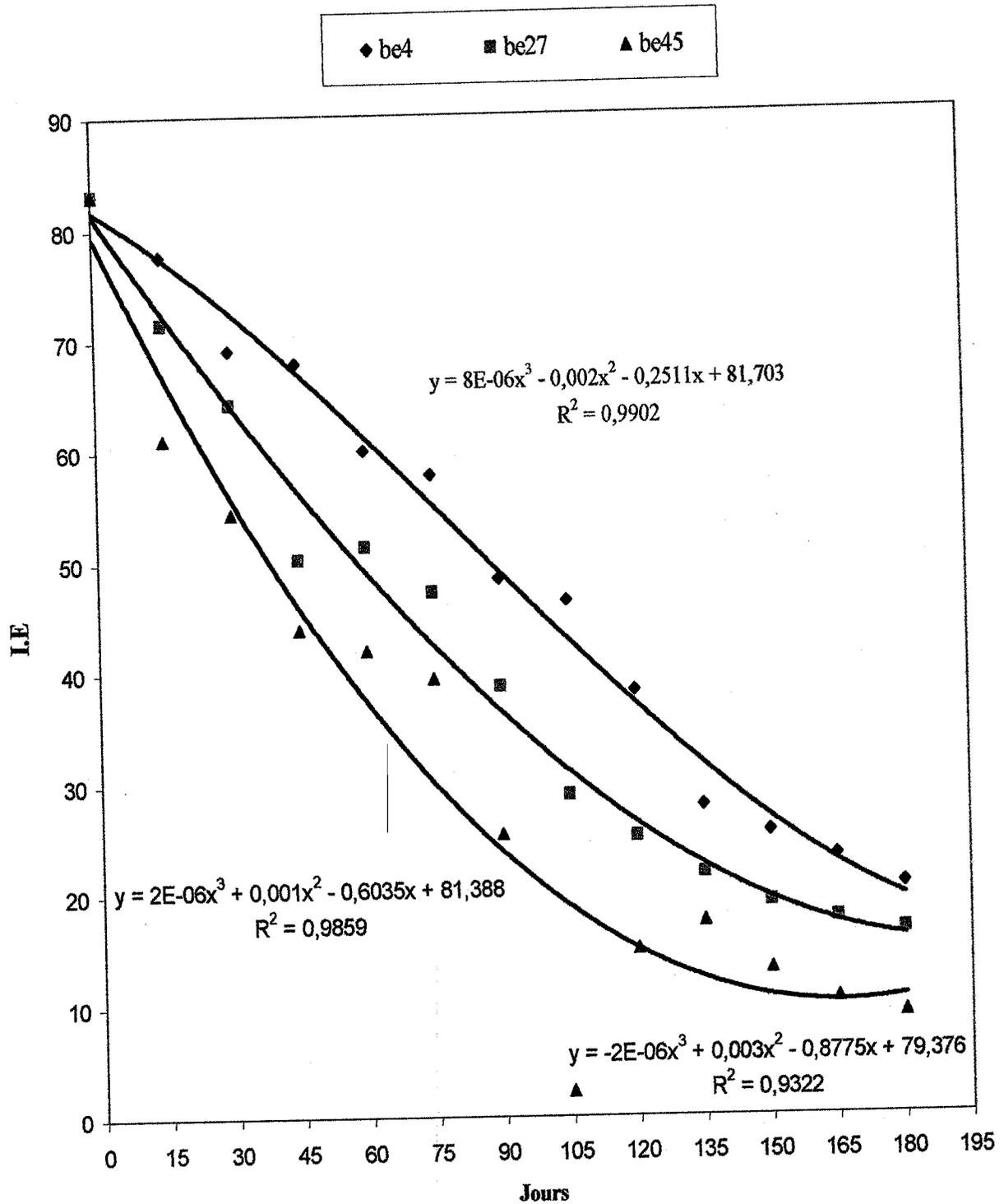


Figure n° 12: Evolution de l'indice d'ester de l'huile essentielle de Fenouil de Beni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température

II.3.4 - Discussion et interprétation

La dégradation des trois échantillons d'huile essentielle présente une évolution identique de l'IE. En effet, dans les trois cas, cet indice décroît au cours du temps et en fonction de la température. Il est à noter qu'une dépendance non linéaire de la température est constatée (figures n°10, 11 et 12).

Il est admis que l'IE représente la quantité d'esters qui se trouve dans le milieu ; il quantifie donc son taux d'esters. La diminution de notre indice d'ester lors de la dégradation de l'huile essentielle reste un résultat purement empirique qui ne peut trouver une explication physique que par le processus inverse de la réaction d'estérification qui est l'hydrolyse des esters, réaction catalysée par les acides du milieu et qui fait diminuer la teneur en esters.

En effet, si la réaction d'estérification coexiste avec la réaction d'hydrolyse (réaction inverse) dans un même milieu, il s'ensuit alors une compétition entre les deux réactions. La première citée étant plus rapide que la deuxième à la même température [65] va dominer jusqu'à épuisement de ses réactifs. A l'équilibre c'est à dire après l'intervalle de temps pendant lequel les réactifs susceptibles d'être estérifiés aient réagi, c'est la réaction d'hydrolyse qui va prendre place et dominer le reste du temps.

Les courbes des figures n° 10, 11 et 12 font apparaître des profils de dégradation très rapprochés de l'indice d'ester et ce pour les trois températures.

Cette décroissance est plus prononcée pour les huiles essentielles maintenues respectivement à 45°C, à 27°C et à 4°C et ce, dans les intervalles (J=0 à J=45 pour l'HE de Nédroma, (J=0 à J=90) pour l'huile essentielle de Honaine et (J=0 à J=135) pour l'huile essentielle de Béni-Ouarsous. En d'autres termes, dans les intervalles de temps cités précédemment, nos échantillons d'huile essentielle sont plus acides.

Pour les trois cas d'huile essentielle, les IE ont tendance à plus ou moins se stabiliser au bout de 6 moi, limite qui représente sans doute le début du seuil de stabilité pour cette indice.

Enfin, nous avons remarqué qu'après la durée de conservation de nos HE (180jours) , l'odeur pour l'échantillon considéré à la température de 4°C persistait relativement par rapport aux deux autres. Ce phénomène peut trouver une explication du fait de la diminution du taux d'esters dans les huiles quant elles sont conservées à température élevé. En effet, un grand nombre d'esters des acides carboxyliques et des

alcools saturés existent dans les plantes et notamment dans leurs essences quant elles sont conservés conférant à celles-ci une odeur agréable [65].

II-4 EVOLUTION DE L'INDICE DE PEROXYDE

- L'indice de peroxyde est défini comme étant le nombre de microgrammes actifs de peroxyde contenu dans un gramme d'huile essentielle et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode dans les conditions de la méthode décrite.
- Principe : il s'agit d'oxyder de l'iodure de potassium au moyen d'une solution de thiosulfate en présence d'emplois d'amidon avec libération d'iode.
- L'indice de peroxyde est donné par :

$$IP = \frac{V - V_0}{m} \cdot 80 \mu g/g$$

$$IP = \frac{V - V_0}{m} \cdot 10 \text{milliéquivalents} / Kg$$

$$IP = \frac{V - V_0}{m} \cdot 5 \text{millimoles} / Kg \quad \text{où :}$$

- V_0 est le volume (ml) de la solution de thiosulfate (N/100) nécessaire pour titrer l'essai à blanc.
- V est le volume (ml) de la solution de thiosulfate (N/100) nécessaire pour titrer l'échantillon.
- m est la masse (g) de la prise d'essai de l'échantillon.

N.B. : 1 millimole / Kg = 2 milliéquivalents / Kg = 16 microgrammes / g.

II-4-1 Huile essentielle de fenouil de Nédroma :

Le tableau N° XIV regroupe les valeurs des indices de peroxyde obtenues à partir de l'huile essentielle de fenouil de Nédroma :

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | 12866 | 14666 | 15333 | 20800 | 21666 | 23000 | 28333 | 25333 | 31200 | 33150 | 35333 | 36200 | 36850 |
| 27 | | 14750 | 19666 | 20092 | 25333 | 25000 | 33000 | 32666 | 38750 | 42100 | 43345 | 45325 | 49100 |
| 45 | | 16333 | 19645 | 25333 | 28666 | 31666 | 36666 | 44000 | 43333 | 51888 | 57600 | 59100 | 58500 |

**Tableau N° XIV : Valeurs des indices de peroxyde
en fonction de la température au cours du temps (Nédroma)**

Au vu des résultats obtenus et mentionnés dans le tableau ci-dessus, l'indice de peroxyde croit de la valeur 12866 pour l'huile fraîchement extraite jusqu'à atteindre respectivement les valeurs 36850, 49100 et 58500 pour les températures de 4°C, 27°C et 45°C.

La figure n° 13 montre que pour l'huile essentielle de Nédroma, l'évolution de l'IP est plus importante pour l'échantillon maintenu à 45°C que pour ceux de 27°C et 4°C.

Aussi, on remarque qu'à partir du 135^{ème} jour l'IP tend à se stabiliser pour les échantillons conservés à 4°C et 45°C alors que pour la température intermédiaire, ce dernier continue à augmenter.

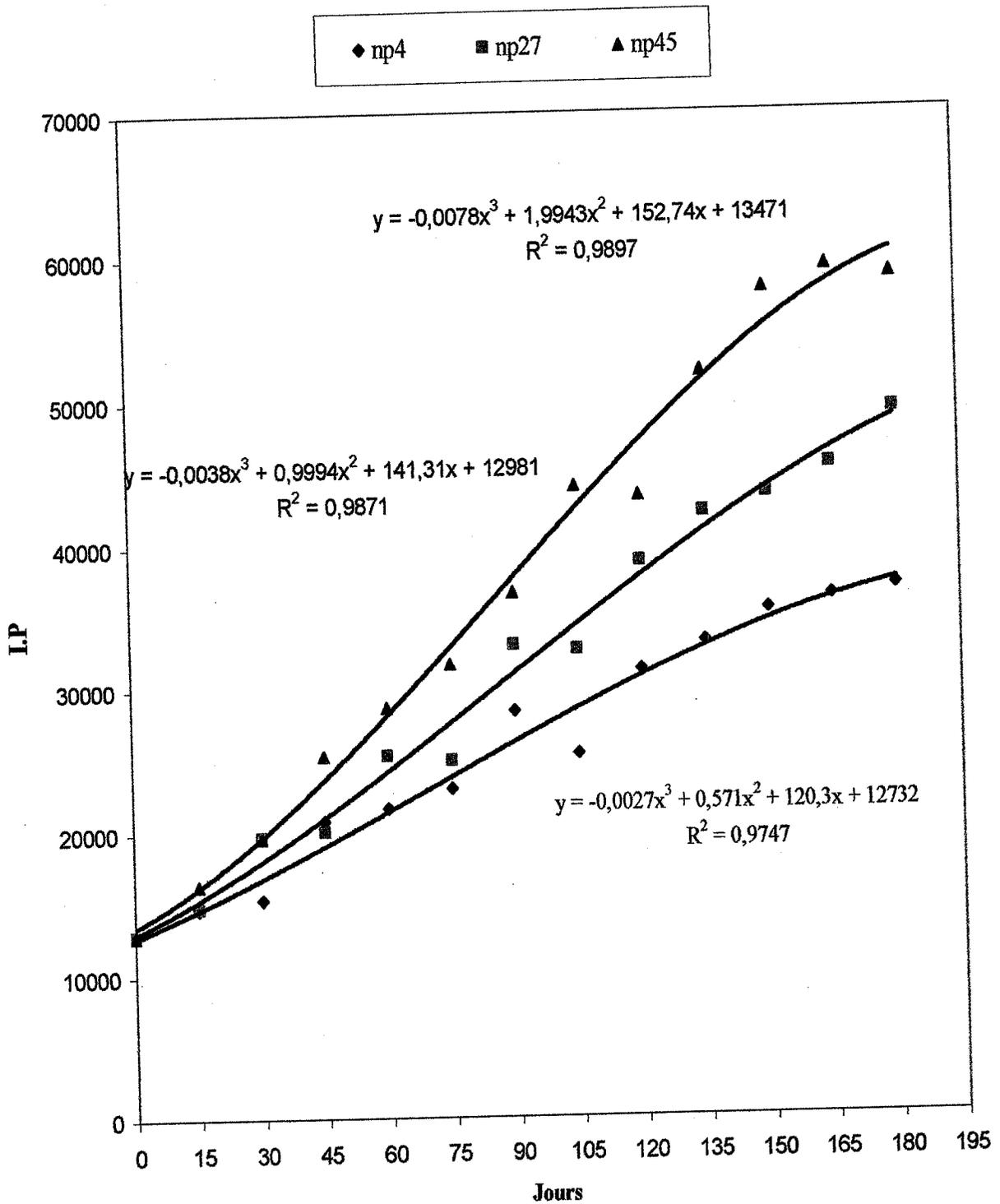


Figure n° 13: Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile essentielle de Fenouil de Nédroma au cours du temps en fonction de la température

II-4-2 Huile essentielle de fenouil de Honaine

Les valeurs des indices de peroxyde obtenues à partir de l'huile essentielle de fenouil de Honaine sont consignées dans le tableau N° XV :

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | 14600 | 16333 | 16666 | 21000 | 24000 | 23333 | 27333 | 31000 | 31200 | 30875 | 35733 | 37000 | 36750 |
| 27 | | 16733 | 20800 | 24400 | 26666 | 27733 | 32000 | 39467 | 42125 | 43750 | 44066 | 48550 | 49000 |
| 45 | | 18667 | 22663 | 24350 | 31666 | 32000 | 38333 | 45066 | 45000 | 50125 | 54132 | 58100 | 59650 |

**Tableau N°XV : Valeurs des indices de peroxyde
en fonction de la température au cours du temps (Honaine)**

L'huile essentielle de Honaine présente une évolution de l'IP similaire à la précédente. La figure n°14 montre une croissance du dit indice dans les trois cas de température. Pour l'échantillon maintenu à 45°C, l'évolution est plus importante que pour les températures de 27°C et 4°C. Les valeurs de l'IP au cours de la dégradation de l'huile essentielle semblent, se stabiliser uniquement pour l'échantillon conservé à 4°C et ce, à partir du 150^{ème} jour.

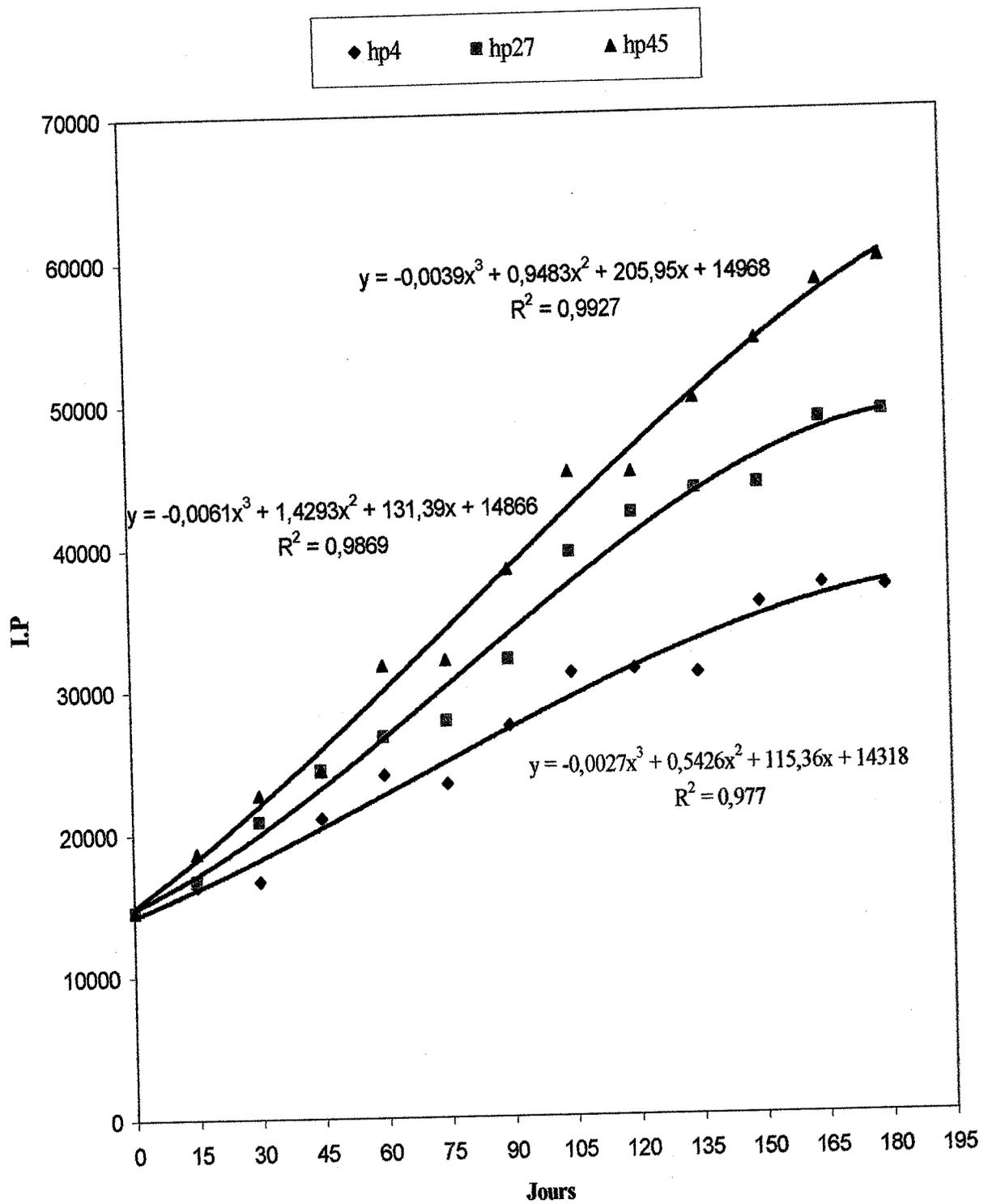


Figure n° 14: Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile essentielle de Fenouil de Honaine au cours du temps en fonction de la température

II-4-3 Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous

Les valeurs des indices de peroxyde obtenues à partir de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous sont regroupées dans le tableau N° XVI :

| Jour T(°C) | 0 | 15 | 30 | 45 | 60 | 75 | 90 | 105 | 120 | 135 | 150 | 165 | 180 |
|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 4 | | 14333 | 18000 | 18525 | 19666 | 21333 | 26667 | 26682 | 31200 | 33100 | 35000 | 36000 | 37100 |
| 27 | 13100 | 15400 | 20000 | 22025 | 22008 | 30020 | 30735 | 34666 | 39333 | 42025 | 43335 | 45750 | 47525 |
| 45 | | 17666 | 21068 | 23340 | 31000 | 33200 | 34333 | 41136 | 45650 | 49800 | 52667 | 56334 | 58125 |

**Tableau N° XVI : Valeurs des indices de peroxyde
en fonction de la température au cours du temps (Béni-Ouarsous)**

Lors de la conservation de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous, l'IP varie d'une manière semblable que ceux des échantillons de Nédroma et Honaine. La figure n°15 montre bien des courbes croissantes de l'IP en fonction de la température au cours du temps ; celle à 45°C évoluant plus rapidement que les deux autres (respectivement à 27°C et 4°C) qui font apparaître une allure relativement stable aux environs du 165^{ème} jour.

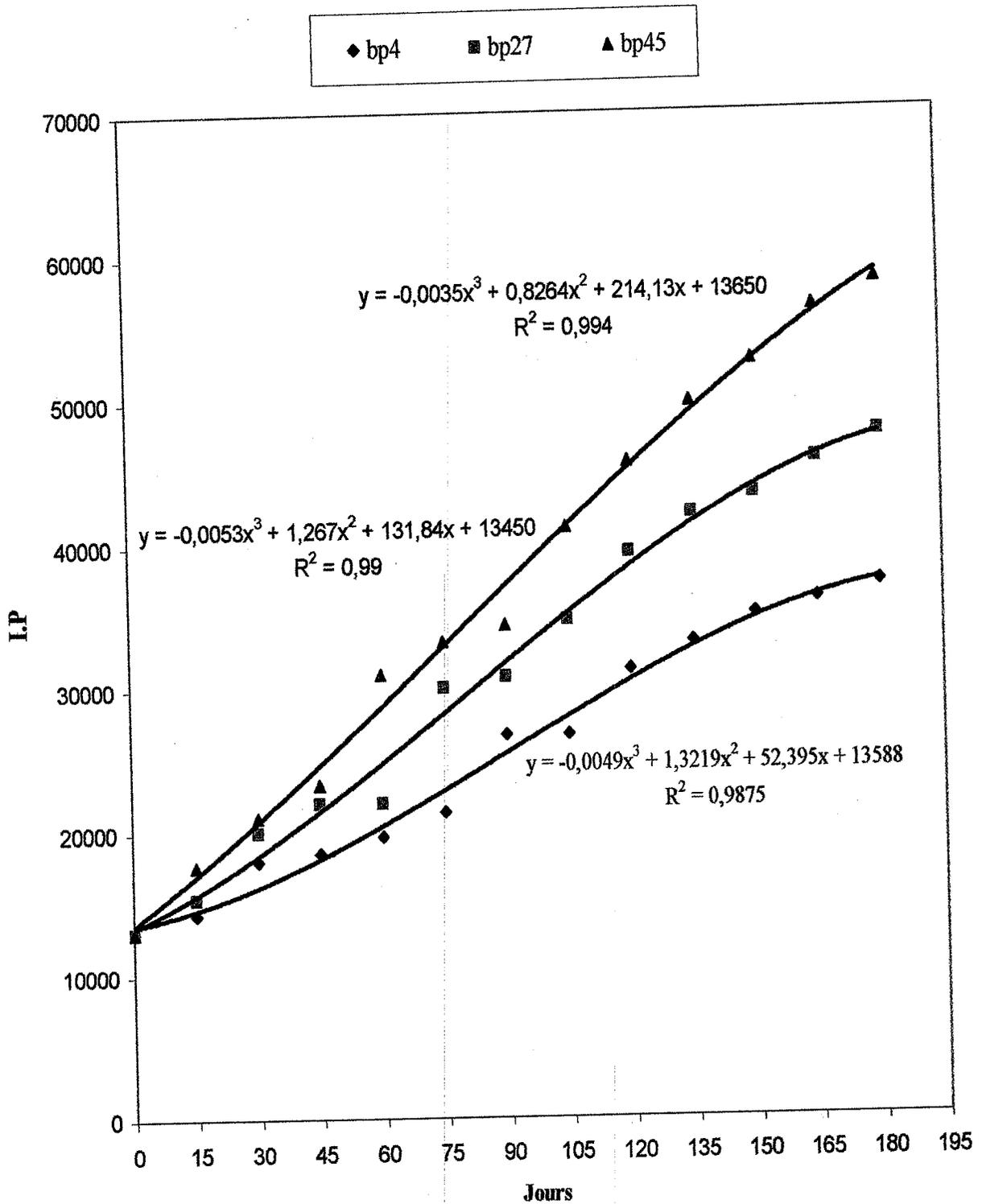


Figure n° 15: Evolution de l'indice de peroxyde de l'huile essentielle de Fenouil de Beni-Ouarsous au cours du temps en fonction de la température

II-4-4 Discussion et interprétation

Il est reconnu que l'élévation de la température et l'action des photons accélèrent l'activité des radicaux libres initiés par les peroxydes. Dans notre cas, seule l'action de la température est prise en compte puisque nos échantillons sont conservés à l'abri de la lumière. L'activité des peroxydes est estimée donc en fonction de la température au cours du temps après une extraction classique de l'huile essentielle (entraînement à la vapeur d'eau) ; opération induisant automatiquement un contact de l'H.E avec l'eau et l'air. Ce sont ces deux facteurs (oxygène de l'air et eau) qui systématiquement, activent également la formation des peroxydes. Ceci reflète les résultats que nous avons obtenus à savoir l'augmentation de l'I.P au cours du temps en fonction de la température ; croissance beaucoup plus accentuée quand cette dernière est relativement élevée.

Aussi, nous constatons que l'HE de Honaine est celle qui renferme le plus de peroxydes suivie de celle de Nédroma et de Béni-Ouarsous. Les figures n° 13, 14 et 15 font apparaître qu'au cours du temps, l'I.P ne fait qu'augmenter et ne paraît se stabiliser que pour les échantillons conservés à 4°C et 27°C aux environs du 5^{ème} mois.

II.5 – INTERPRETATIONS DES INDICES CHIMIQUES AU COURS DE LA DEGRADATION DES HUILES ESSENTIELLES

L'étude de la dégradation de l'huile essentielle de fenouil provenant de trois stations différentes lors de sa conservation en fonction de la température nous a permis de suivre l'évolution de trois indices chimiques à savoir l'indice d'acide, d'ester et de peroxyde connus comme figurant parmi les critères de qualité les plus importants pour une huile essentielle.

S'agissant du premier indice cité, l'huile essentielle lors de sa conservation montre une croissance de celui-ci. Les courbes obtenues font apparaître une évolution similaire et ce, pour les trois températures.

Aussi, cette étude révèle que l'échantillon maintenu à 4°C se dégrade moins facilement que les autres considérés à des températures plus élevées (respectivement 27°C et 45°C). Ceci montre bien l'influence de la température sur une HE car comme signalé auparavant, une oxydation par exemple, est plus activée lorsque cette dernière (température) est grande.

Les valeurs des IA obtenues classent l'huile essentielle de Nédroma comme étant la plus acide (IA=1,98) suivie de celle de Béni-Ouarsous (IA=1,68) et de Honaine (IA=1,42). Cet état de fait dépend très certainement de l'influence des facteurs environnement et de la qualité du sol.

Il est à noter qu'un seuil de stabilité de l'IA pour les trois échantillons lors de leur conservation peut être situé aux environs de quatre mois et demi à cinq mois.

Concernant l'indice d'ester, son évolution lors de la dégradation de l'huile essentielle se fait à l'opposé de celle de l'IA. En effet, les courbes que nous avons établies montrent une décroissance du dit indice en fonction de la température au cours du temps, Une dépendance non linéaire de la température est à remarquer (figures n° 10, 11 et 12).

L'IE quantifie le taux d'esters que renferme une huile essentielle. Sa diminution lors de la dégradation de l'huile est un résultat purement empirique qui ne peut trouver d'explication physique que par la réaction d'hydrolyse des esters (réactions inverse à la réaction d'estérification) catalysée par les acides du milieu et qui fait diminuer la quantité d'esters contenue dans l'échantillon.

Les figures n° 10, 11 et 12 font apparaître clairement une évolution de l'IE similaire pour les trois huiles et plus prononcée pour celle considérée à 45°C que celles de 27°C et 4°C dans les intervalles de temps respectifs (J=0 à J = 45) pour l'H,E de Nédroma, (J = 0 à J = 90) pour l'H.E de Honaine et (J = 0 à J=135) pour HE de Béni-Ouarsous ; l'acidité des échantillons d'huile est donc plus marquée dans ces intervalles.

La diminution du taux d'esters qui confèrent aux HE une odeur agréable, fait disparaître cette dernière.

Lors de l'évolution de l'I.P en fonction de la température au cours du temps les figures n°13,14,15 montrent une croissance de celui-ci qui peut trouver explication dans le fait que l'élévation de température et l'action des photons accélèrent l'activité des radicaux libres initiés par les peroxydes. Par ailleurs les contacts de l'H.E avec l'eau au cours de l'extraction et surtout avec l'oxygène de l'air pendant les prises d'essais activent également la formation des peroxydes.

Aussi, l'I.P augmente continuellement jusqu'au 180^{ème} jour et ne semble se stabiliser "timidement" que pour les échantillons conservés à 4°C et 27°C aux environs du 5^{ème} mois.

Il est à noter également que l'H.E de fenouil de Honaine est la plus riche en peroxydes suivie de celle de Béni-Ouarsous et de Nédroma.

TROISIEME PARTIE

EXAMEN PHYTOCHIMIQUE DE LA PLANTE

L'analyse chimique des êtres vivants a montré que, exception faite des molécules d'eau et des ions minéraux, toutes les substances qui les constituent sont des composés du carbone et donc des substances organiques [67].

Jusqu'à présent, un grand nombre de ressources naturelles est encore explorées, parmi les plus importantes, celle du monde végétal et notamment les plantes aromatiques et médicinales qui, souvent, sont utilisées dans les domaines pharmaceutique, cosmétologique et alimentaire.

A cela, s'impose alors trois études qui sont :

- une étude ethnopharmacologique qui consiste à faire des enquêtes sur l'utilisation des plantes médicinales auprès des populations rurales,
- une étude phytochimique permettant de rechercher et d'isoler certaines molécules de plantes aux fins de leur éventuelle utilisation comme agents thérapeutiques ou comme sources de matériaux économiques,
- une étude pharmacologique caractérisée par l'observation du comportement des plantes dans leur environnement [15].

Les substances actives des plantes sont de deux types [69] :

- Les produits issus du métabolisme primaire parmi lesquelles, les glucides, les lipides, les protéines, les acides aminés etc... Les métabolites primaires sont produits en grande quantité par les plantes [15].
- Les produits du métabolisme secondaire qui représentent le deuxième type de substances actives rencontrées dans les végétaux. Ils sont constitués essentiellement de l'assimilation de l'azote et sont souvent toxiques et susceptibles de provoquer des effets indésirables sur l'organisme vivant [15]. En revanche, on reconnaît à certains d'entre-eux de remarquables effets thérapeutiques quand ils sont utilisés à bon escient (68). Il existe plus de 200 000 métabolites secondaires produits en très faible quantité et classés selon leur appartenance chimique [15].

A l'inverse des métabolites primaires, les métabolites secondaires ne sont pas synthétisés de manière uniforme dans le règne végétal. Un métabolite secondaire particulier est souvent spécifique à quelques espèces. Selon Strack [70], trois grandes catégories de métabolites secondaires ont été définies : les composés phénoliques, les isoprénoides et les composés azotés. Guignard (71) classe les hétérosides dans le 4ème groupe.

Le but de cette étude est d'estimer les valeurs nutritionnelles du *Foeniculum* vulgare mill. par ses composés lipidiques, protéiques et par ses glucides et également d'apprécier sa toxicité par les coumarines et les tanins. La qualité nutritionnelle est testée sur des rats de souche « wistar ».

A cet effet, nous avons procédé à la détermination des teneurs en eau et en cendres [72], puis de celles des glucides, cellulose, lipides et protéines composés relevant du métabolisme primaire et ce, dans un premier temps. Ensuite, des tests phytochimiques visant seulement la détection de familles de composés chimiques ont été réalisés dans un deuxième temps.

Les modes opératoires et tests de caractérisation sont décrits en annexe II.

I - COMPOSITION CHIMIQUE DU FENOUIL

Dans ce chapitre, nous procéderons à la détermination des teneurs en eau et en cendres, à la détermination quantitative de quelques composés essentiels appartenant au métabolisme primaire à l'aide de techniques décrites dans l'annexe II et, viserons la caractérisation de grandes familles de composés chimiques coexistants dans les différentes parties étudiées de la plante. La mise en révélation de ces familles se fait par des réactions de précipitation ou de coloration utilisant des réactifs spécifiques. Ces réactions se traduisent par l'apparition d'une floculation, un changement de couleur ou une turbidité qui nous renseigne sur la nature de ces familles (voir annexe II).

I.1 - PREPARATION DES ECHANTILLONS

Après la récolte des fenouils des différentes régions, les plantes sont triées. Le séchage du matériel végétal est réalisé dans un espace bien aéré et à l'abri du soleil. Au cours du séchage, le matériel végétal est de temps en temps retourné.

Les échantillons sont ensuite finement broyés et mis dans des bocaux en verre hermétiquement fermés et conservés à basse température (au réfrigérateur).

I.2 - TENEURS EN EAU ET EN CENDRES

I.2.1 - Fenouil de Nédroma

Les teneurs en eau et en cendres que nous avons obtenues pour la plante provenant de la station d'étude de Nédroma sont respectivement de **76,5% et 6%**.

I.2.2 - Fenouil de Honaine

Pour la plante provenant de la station d'étude de Honaine, nous trouvons des teneurs en eau et en cendres respectivement égales à **81,3% et 8%** ; valeurs dépassant celles données précédemment. Le fenouil de Honaine est donc plus humide que celui de Nédroma, résultat qui semble plausible vu que la première station citée est plus proche du littoral.

I.2.3 - Fenouil de Béni-Ouarsous

Le fenouil provenant de la station d'étude de Beni-Ouarsous donne comme valeurs respectives des teneurs en eau et en cendres : **70,8% et 6,7%**.

Comme attendu, la teneur en eau est plus faible que celles des plantes de Nédroma et Honaine et cela est dû sans nul doute au fait que la région de Béni-Ouarsous de part sa situation géographique, est moins humide que les deux premières citées.

I.3 - COMPOSES DU METABOLISME PRIMAIRE

Les farines ainsi obtenues permettent de doser les éléments nécessaires (matière minérale, glucide, matière grasse et protéine) aux fins de déterminer leurs teneurs et de pouvoir ainsi bien définir le potentiel nutritif de la plante.

Dosage des lipides

Les huiles grasses sont extraites à l'aide d'un solvant organique dans l'appareil de type soxhlet. Après évaporation du solvant, le taux de matière grasse est déterminé gravimétriquement selon la méthode indirecte des résidus souvent appliquée dans les plantes et les graines non oléagineuses (annexe II) [73].

Dosage des glucides

Répondus largement chez les végétaux, les glucides remplissent à la fois des rôles structuraux et métaboliques. Leur dosage se fait par équivalent en glucose réducteur de référence. Ce dernier, à l'état libre ou combiné, est l'un des composés organiques les plus abondants. Il est l'un des aldohexoses le plus stable thermodynamiquement.

La technique de référence européenne pour la détermination des sucres réducteurs ou sucres totaux après inversion est une méthode volumétrique (74). Les sucres réducteurs réduisent l'ion complexe ferricyanure en ferricyanate, réaction mise à profit par Magedonr Jensen [75].

Le principe consiste à doser des ferricyanures de potassium qui n'ont pas réagi avec les sucres réducteurs par une solution de thiosulfate de potassium. A chaque volume de ferricyanure réduit correspond une teneur en glucose (annexe II).

Dosage des matières azotées

Le dosage des formes azotées d'un produit agro-alimentaire se fait par des méthodes chimiques.

La technique la plus utilisée, à ce jour, est celle de Kjeldhal [76] (depuis 1883); elle reste la technique de base pour ce type d'analyse.

Elle consiste à minéraliser l'échantillon à l'aide de l'acide sulfurique et d'un catalyseur minéral (cuivre, sélénium) en chauffant jusqu'à disparition de toute coloration. Il est indispensable d'ajouter des adjuvants de nature forte tels que les oxydants afin d'accélérer l'opération.

La totalité des formes organiques d'azote est convertie en sulfate d'ammonium. L'ammoniaque est déterminée par une technique appropriée (distillateur) (Annexe II).

I.3.1 - Fenouil de Nédroma

Les teneurs des composés du métabolisme primaire sont regroupées dans le tableau N° XVII :

| Composés | Poids sec (%) | Valeurs de la littérature | Références |
|-----------|---------------|---------------------------|------------|
| Glucides | 13 | 23 | [77] |
| Cellulose | 40 | 27,50 | |
| Lipides | 12 | 20 | |
| Protéines | 17,50 | 20 | |

Tableau N° XVII Valeurs des teneurs en glucides, cellulose, lipides et protéines du fenouil de Nédroma

Les résultats du tableau N° XVII montrent des valeurs appréciables des taux en protéines et lipides pour assurer une bonne croissance du rat de souche « wistar ». Ces valeurs se rapprochent également de celles citées par la littérature. En revanche, la teneur en glucides est relativement faible et ne permet pas une bonne valeur énergétique du développement de l'animal.

I.3.2 - Fenouil de Honaine

Les teneurs en glucides, cellulose, lipides et protéines de la plante provenant de la station d'étude de Honaine sont consignées dans le tableau N° XVIII.

| Composés | Poids sec (%) | Valeurs de la littérature | Références |
|-----------|---------------|---------------------------|------------|
| Glucides | 16,50 | 23 | [77] |
| Cellulose | 43 | 27,50 | |
| Lipides | 13,50 | 20 | |
| Protéines | 16,90 | 20 | |

Tableau N° XVIII : Valeurs des teneurs des composés du métabolisme primaire du fenouil de Honaine

Au vu des résultats regroupés dans le tableau ci-dessus, nous remarquons que le taux en protéines est presque le même que celui de la plante de Nédroma, mais que les teneurs en cellulose et particulièrement en glucides et lipides sont plus élevées. Contrairement donc au cas précédent, les conditions sont mieux réunies pour assurer une bonne croissance du rat d'une part et de permettre une bonne valeur énergétique pour son développement d'autre part. Aussi, les valeurs que nous obtenons sont voisines de celles citées par la bibliographie.

I.3.3 - Fenouil de Béni-Ouarsous

Le tableau N° XIX regroupe les taux des composés issus du métabolisme primaire pour la plante provenant de Béni-Ouarsous.

| Composés | Poids sec (%) | Valeurs de la littérature | Références |
|-----------|---------------|---------------------------|------------|
| Glucides | 11,50 | 23 | [77] |
| Cellulose | 34 | 27,50 | |
| Lipides | 12,50 | 20 | |
| Protéines | 13,50 | 20 | |

Tableau N° XIX : Teneurs en glucides, cellulose, lipides et protéines du fenouil de Béni-Ouarsous

Les valeurs que nous avons obtenues pour les composés issus du métabolisme primaire montrent des taux faibles par rapport à ceux déterminés pour les plantes des stations d'étude de Nédroma et de Honaine. Par conséquent, ces teneurs en protéines, glucides et lipides ne peuvent ni constituer un régime adéquat pour une bonne croissance de l'animal ni permettre un développement convenable de ce dernier ; ces valeurs restent en deçà de celles données par la bibliographie.

I.4 - COMPOSES ISSUS DU METABOLISME SECONDAIRE

La découverte des ressources naturelles du monde végétal reste capitale pour la mise au point de nouveaux remèdes thérapeutiques. Les composés chimiques sont déterminés par une étude phytochimique dont l'un des buts essentiels est la détection de classes des composés existant dans les différents organes des plantes [tiges, feuilles, racines, graines..]. Aussi, il est important de souligner que dans l'alimentation animale ou humaine, les risques d'action indésirable sont fonction des quantités ingérées des substances. Il est donc certain que le problème lié aux facteurs anti-nutritionnels reste très complexe.

Les réactions d'identification des familles de composés chimiques sont généralement simples, rapides, faciles à mettre en œuvre et ne nécessitant pas un matériel spécifique. Elles sont caractérisées par une coloration ou une précipitation pouvant orienter suivant le résultat obtenu relatif à la concentration de certains constituants (Annexe II).

I.4.1. Différentes classes recherchées

- **Les alcaloïdes**

Ce sont des composés organiques azotés existant à l'état de sels. Ils constituent avec les hétérosides, la majorité des principes actifs des plantes médicinales. Le terme alcaloïde a été introduit au début du XIX^{ème} siècle par W.Meisner (1818) ; il rappelle le caractère alcalin de ces substances mettant à profit leur extraction et leur dosage [9], [78].

Leur action pharmacologique est importante : stimulants, anesthésiques locaux, antitumoraux etc... .

- **Les flavonoïdes**

Ce sont des composés polyphénoliques très répandus dans le règne végétal dont la fonction principale est la pigmentation des plantes. Largement distribués dans le règne végétal, les flavonoïdes sont présents en plus ou moins grande quantité dans les aliments et les boissons d'origine végétale (thé, café, jus de fruits, vins...) [79], [80].

- **Les tanins**

Ce sont des composés phénoliques, de structures variées qui peuvent être divisés en deux groupes [81], [82] :

- **les tanins hydrolysables** appelés tanins pyrogalliques et qui sont des polyesters de glucides et d'aides-phénol. Ils sont facilement scindés par les

acides ou les enzymes (tannases) en-ose et en acide-phénol. On distingue les tanins galliques (dans le cas de l'acide gallique) et les tanins ellagiques dans le cas de l'acide ellagique (ce dernier résulte de la condensation de deux acides galliques),

- **les tanins condensés** ou proanthocyanidols sont différents fondamentalement des tanins galliques et ellagiques.

Leur structure est voisine de celle des flavonoïdes, ils ne possèdent pas de sucre dans la molécule. Ils sont formés de deux ou plusieurs molécules de flavan-3-ols, dont l'union se fait par des liaisons carbone-carbone.

Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures (effet vasoconstructeur dû à l'astringence). Certains problèmes peuvent être posés en agriculture notamment la diminution de la valeur nutritive des fourrages [82].

- **Les anthracénosides et émodols**

Cette classe de familles regroupe les composés phénoliques hétérosidiques, les émodols (dérivés hydroxyanthracéniques) et les anthraquinones.

Ils ont des propriétés irritantes et laxatives sur le gros intestin facilitant ainsi le transit intestinal [83].

- **Les coumarines**

Dérivés de la benzo- pyrone, ils sont très répandus dans le règne végétal. Leurs propriétés chimiques sont principalement dues à la fonction lactone. L'ouverture de cette dernière et sa solubilisation sont réalisées en milieu alcalin. Sa régénération (par sa fermeture) est réalisée en milieu acide [84]. Leur spectre UV est caractéristique et sert à leur identification [85], [86]. Elles sont caractérisées par une fluorescence des solutions extractives.

Certaines coumarines sont présentées comme veinotoniques et vasculoprotectrices.

- **Les anthocyanosides (anthocyanines)**

Les anthocyanosides sont issus du métabolisme général des flavonoïdes. Ces pigments sont présentés sous forme d'hétérosides (anthocyanosides), dont les génines (les anthocyanidols) sont des dérivés du cation 2-phénylbenzopyrylium communément appelé cation flavylum (oxygène sous forme d'oxonium) et dont l'hydroxyle en position 3 est toujours lié à un sucre, le plus souvent un glucose [87].

L'intérêt industriel majeur est leur pouvoir colorant [88].

- **Les stérols et stéroïdes**

Ce sont des composés terpéniques se présentant sous forme d'alcools libres (sitostérol) ou sous forme d'esters associés par le glucose (glucoside stérol) [89], [90].

Ils jouent un rôle important dans la qualité des graisses et des huiles. Leur caractérisation est basée sur la réaction de Liebermann-Burchardt.

L'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel des triterpènes et des stéroïdes en font un groupe de métabolites secondaires de première importance [91].

- **Les saponosides**

Ce sont des hétérosides de poids moléculaires élevés appartenant aux stérols ou triterpènes.

Selon la nature des génines, il existe des saponosides à génines stéroïdiques et des saponosides à génines triterpéniques. Leur caractérisation est faite en milieu aqueux, la formation d'une couche hydrophobe est expliquée par l'intermédiaire des liaisons hydrogènes entre plusieurs groupes hydroxyles ou carboxyliques de saponines et les molécules d'eau.

Ils possèdent des propriétés anti-inflammatoires, vasculoprotectrices et veinotoniques [92].

I.4.2 - Fenouil de Nédroma

Les résultats concernant les composés appartenant au métabolisme secondaire obtenus sur les différents organes de la plante mature (cueillie au mois de décembre) de Nédroma sont regroupés dans les tableaux N° XX, XXI, XXII et XXIII.

* Graines

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | ++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | +++ | |
| Flavonoides | +++ | | | |
| Tanins | ++ | ++ | | |
| Coumarines | +++ | | | |
| Alcaloïdes | - | | | Absence |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | - | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XX : Constituants issus de la graine du fenouil mature de Nédroma

Le tableau N° XX montre l'absence totale de quatre familles de composés chimiques plus ou moins toxiques à savoir les anthracénosides, les anthocyanosides, les alcaloïdes et les émodols ; résultat qui favorise le degré de digestibilité de la plante chez l'animal. La présence de flavonoïdes et de saponosides, composés connus pour leurs effets thérapeutiques même s'ils sont toxiques à de fortes proportions, est peu marquée. Les taux de tanins et de coumarines relativement importants, agissent sur la digestibilité des protéines et peuvent par conséquent inhiber le rendement nutritionnel.

* Tiges

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|---|---------|-----|-------|-----------------|
| Saponosides | | ++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | +++ | |
| Flavonoides | +++ | | | |
| Tanins | ++ | ++ | | |
| Coumarines | +++ | | | |
| Alcaloïdes | - | | | Absence |
| Anthracénosydes | - | | - | |
| Anthocyanosides | - | | - | |
| Emodols | | | | |

**Tableau N° XXI : Familles de composés chimiques provenant de la tige
de fenouil mature de Nédroma**

Concernant la tige, on note comme pour la graine l'absence totale des alcaloïdes, des anthracénosydes, des anthocyanosides et des émodols. Ce résultats, comme cité précédemment est en faveur du degré de digestibilité du rat. Les taux de flavonoïdes et de saponosides sont moins importants que dans le cas de la graine et il y va de même pour les coumarines. Cependant, les tanins restent fortement présents. Au vu de ces résultats, on peut dire que la tige présente un meilleur rendement nutritionnel que la graine.

* Racines

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | ++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | + | |
| Flavonoides | - | | - | Absence |
| Tanins | - | - | | |
| Coumarines | - | | | |
| Alcaloides | - | | - | |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | - | | - | |

Tableau N° XXII : Composés du métabolisme secondaire appartenant aux racines du fenouil mature de Nédroma

Dans le cas de la racine de fenouil de Nédroma comme le montre le tableau N° XXII, on note l'absence cette fois de sept familles de composés chimiques parmi elles certaines très toxiques (coumarines et tanins). Ce résultat va en faveur de la digestibilité de la plante chez l'animal mieux dans ce cas que dans ceux de la graine et de la tige. La présence très peu marquée des saponosides et des huiles essentielles n'a pas d'effet particulier sur le rat lors de sa croissance et son développement.

| Epuisement à Familles des composés | G* | T* | R* | G | T | R | G | T | R | Résultats |
|--|---------|-----|----|-----|----|----|-------|-----|---|-----------|
| | Ethanol | | | Eau | | | Ether | | | |
| Saponosides | | | | ++ | ++ | ++ | | | | Présence |
| Stérol et Stéroïdes | - | - | - | | | | + | + | + | |
| Huiles volatiles | | | | | | | +++ | +++ | + | |
| Flavonoïdes | +++ | +++ | - | | | | | | - | |
| Tanins | ++ | ++ | - | ++ | ++ | - | | | | |
| Coumarines | +++ | +++ | - | | | | | | | |
| Alcaloïdes | - | - | - | | | | | | - | Absence |
| Anthracénosides | - | - | - | | | | | - | | |
| Anthocyanosides | - | - | - | | | | - | - | | |
| Emodols | | | - | | | | - | | - | |

* : G (graines) - T (tiges) - R (racines)

Tableau N° XXIII : Tableau récapitulatif regroupant les résultats obtenus sur les différents organes de la plante de Nédroma..

I.4.3 - Fenouil de Honaine

Les tableaux N° XXIV, N° XXV, N° XXVI et N° XXVII regroupant les résultats relatifs aux composés issus du métabolisme secondaire obtenus à partir des différents organes de la plante mature (cueillie au mois de décembre) provenant de la station d'étude de Honaine.

*** Graines**

| Familles de composés / Epuisement à | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|---|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | +++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | + | | ++ | |
| Huiles volatiles | | | +++ | |
| Flavonoides | +++ | | | |
| Tanins | ++ | +++ | | |
| Coumarines | +++ | | | |
| Alcaloïdes | - | | - | Absence |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XXIV : Constituants du métabolisme secondaire issus de la graine du fenouil mature de Honaine

Au vu des résultats consignés dans le tableau N° XXIV, la même remarque est à souligner que pour les cas de la graine et de la tige du fenouil de Nédroma à savoir l'absence des alcaloïdes, des anthracénosides, des anthocyanosides et des émodols. En revanche, on note une présence très marquée des flavonoïdes, des tanins et des coumarines ; résultat attendu puisque la plante provenant de Honaine fournit un rendement en huile essentielle (composé appartenant au métabolisme secondaire) important par rapport à ceux de Nédroma et Béni-Ouarsous [78]. Dans ce cas, la toxicité de la graine de fenouil de Honaine devient importante et agira certainement néfastement sur le rat « wistar ».

*** Tiges**

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | + | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | + | | + | |
| Huiles volatiles | | | +++ | |
| Flavonoïdes | ++ | | | |
| Tanins | + | +++ | - | |
| Coumarines | ++ | | | |
| Alcaloïdes | - | | - | Absence |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

**Tableau N° XXV : Familles de composés chimiques issues de la tige
du fenouil mature de Honaine**

La situation dans le cas de la tige se présente d'une manière similaire à celle de la graine. En effet, on note l'absence des mêmes familles de constituants et une présence légèrement, moins marquée de tanins, flavonoïdes et coumarines. Cette partie de la plante, comme la précédente agira négativement sur la croissance de l'animal du fait de la toxicité des éléments cités.

*** Racines**

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | +++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | + | |
| Flavonoïdes | + | | | |
| Tanins | + | + | + | |
| Coumarines | + | | | |
| Alcaloïdes | + | | - | |
| Anthracénosydes | - | | | Absence |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XXVI : Constituants du métabolisme secondaires provenant des racines du fenouil mature de Honaine

Dans le dernier organe étudié de la plante, nous notons une présence « timide » des alcaloïdes, flavonoïdes, tanins et coumarines ce qui minimise considérablement la toxicité pour la racine de fenouil de Honaine ; résultat appuyé par l'absence des anthracénosides, des anthocyanosides et des émodols.

Les racines du fenouil de Honaine, sont donc le seul organe qui peut être administré au cobaye sans grand danger.

| Epuisement à Familles des composés | G* | T* | R* | G | T | R | G | T | R | Résultats |
|--|---------|----|----|-----|-----|-----|-------|-----|---|-----------|
| | Ethanol | | | Eau | | | Ether | | | |
| Saponosides | | | | +++ | + | +++ | | | | Présence |
| Stérol et Stéroïdes | + | + | - | | | | ++ | + | + | |
| Huiles volatiles | | | | | | | +++ | +++ | + | |
| Flavonoïdes | +++ | ++ | + | | | | | | | |
| Tanins | ++ | + | + | +++ | +++ | + | | - | + | |
| Coumarines | +++ | ++ | + | | | | | | | |
| Alcaloïdes | - | - | + | | | | - | - | - | |
| Anthracénosides | - | - | - | | | | | | | Absence |
| Anthocyanosides | - | - | - | | | | | | | |
| Emodols | | | | | | | - | - | - | |

* : G (graines) - T (tiges) - R (racines)

Tableau N° XXVII : Tableau récapitulatif regroupant les résultats obtenus sur les différentes parties du fenouil de Honaine

I.4.4 - Fenouil de Béni-Ouarsous

Les résultats obtenus relatifs aux constituants issus du métabolisme secondaire sur les différentes parties de la plante mature (cueillie au mois de décembre) provenant de Béni-Ouarsous sont consignés dans les tableaux N° XXVIII, XXIX, XXX et XXXI.

* Graines

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | ++ | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | ++ | |
| Flavonoides | + | | | |
| Tanins | + | ++ | | |
| Coumarines | ++ | | | |
| Alcaloides | - | | - | Absence |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XXXVIII : Composés issus du métabolisme secondaire de la graine de fenouil mature provenant des la station d'étude de Béni-Ouarsous

* Tiges

| Epuisement à | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|-----------------------------|----------------|------------|--------------|------------------|
| Familles de composés | | | | |
| Saponosides | | + | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | + | | - | |
| Huiles volatiles | | | + | |
| Flavonoides | + | | | |
| Tanins | + | + | - | |
| Coumarines | + | | | |
| Alcaloides | - | | | Absence |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XXIX : Familles de composés chimiques provenant de la tige du fenouil mature de Béni-Ouarsous

La graine et la tige du fenouil de Béni-Ouarsous présentent des résultats qui se rapprochent à l'exception d'une proportion légèrement élevée en coumarines et en tanins dans le cas de la graine. D'après [37], c'est un résultat que l'on prévoyait du fait de la faible teneur en huile essentielle dans les deux organes. La toxicité dans ce cas est donc très peu marquée.

*** Racines**

| Epuisement à Familles de composés | Ethanol | Eau | Ether | Résultats |
|--|----------------|------------|--------------|------------------|
| Saponosides | | + | | Présence |
| Stérol et stéroïdes | - | | + | |
| Huiles volatiles | | | + | |
| Flavonoides | - | | | Absence |
| Tanins | - | - | - | |
| Coumarines | - | | | |
| Alcaloides | - | | - | |
| Anthracénosydes | - | | | |
| Anthocyanosides | - | | | |
| Emodols | | | - | |

Tableau N° XXX : Constituants du métabolisme secondaire issus de la racine du fenouil mature de Béni-Ouarsous

Les racines du fenouil provenant de la station d'étude de Béni-Ouarsous est l'organe renfermant le moins de métabolites secondaires étudiés (absence de sept familles et faible présence de trois familles) (voir tableau N° XXX). Cette partie de la plante est la moins toxique au vu des résultats que nous avons obtenus mais fournit très peu d'huile essentielle, composé fort intéressant comme déjà signalé auparavant.

| Epuisement à Familles des composés | G* | T* | R* | G | T | R | G | T | R | Résultats |
|--|---------|----|----|-----|---|---|-------|---|---|-----------|
| | Ethanol | | | Eau | | | Ether | | | |
| Saponosides | | | | ++ | + | + | | | | Présence |
| Stérol et Stéroïdes | - | + | - | | | | + | - | + | |
| Huiles volatiles | | | | | | | ++ | + | + | |
| Flavonoïdes | + | + | - | | | | | | | |
| Tanins | + | + | - | ++ | + | - | | - | - | |
| Coumarines | ++ | + | - | | | | | | | |
| Alcaloïdes | - | - | - | | | | - | | - | Absence |
| Anthracénosides | - | - | - | | | | | | | |
| Anthocyanosides | - | - | - | | | | | | | |
| Emodols | | | | | | | - | - | - | |

* : G (graines) - T (tiges) - R (racines)

Tableau N°XXXI : Tableau récapitulatif regroupant les résultats obtenus sur les différents organes de la plante de Béni-Ouarsous.

I.5 - DISCUSSION

Cette partie du travail a pour but de mettre à profit les produits dans notre pays (culture spontanée et/ou surveillée) comme aliment de sevrage et de récupération nutritionnelle en raison de leur faible coût comparativement aux produits importés. En effet notre étude porte sur une plante sauvage et abondante (*Foeniculum vulgare Mill*) où les teneurs en macromolécules restent relativement acceptables pour une bonne croissance car les valeurs obtenues sont de 17.50% pour les protéines, de 13% pour les glucides et de 12% pour les lipides. Les teneurs restent relativement voisines pour la plante issue des différentes régions et les légères différences sont dues probablement à des facteurs écologiques et/ou pédologiques ; facteurs influant énormément sur la croissance de la plante et sur sa composition.

Notre objectif est de constituer un régime alimentaire à base de protéines végétales (de la plante entière) vu que le pourcentage obtenu correspond à un taux protéique qui permettra de maintenir une bonne croissance pondérale chez les rats.

Lors de cette étude nutritionnelle, le taux de mortalité observé était important ce qui nous laisse penser qu'un régime à base de farine pure de fenouil n'est pas à retenir. Les résultats peuvent s'expliquer par le fait de la faible acceptabilité de la plante qui a pour conséquence une quantité ingérée insuffisante d'une part et, de la digestibilité qui reste également très faible d'autre part.

Par ailleurs, nous pensons que cette mortalité accrue en nombre de ces rats est due aussi à la présence de facteurs antinutritionnels (antiprotéasiques, hémagglutinines) et de composés toxiques (coumarines, tanins) contrairement à la mauve qui a montré une bonne acceptabilité et une bonne digestibilité d'où, une bonne croissance chez les rats ayant subi une carence protéique sévère. En effet, un régime à base de protéine de mauve c'est avéré efficace comparé à un régime témoin à base de protéines animales à 16% en caséine.

Au vu des résultats obtenus, il est souhaitable de procéder d'une part à une élimination des substances toxiques et des facteurs antinutritionnels favorisant ainsi une bonne digestibilité de ce régime à base de protéines de fenouil. A cet effet, il existe une technique de purification des protéines (isolats protéiques) qui permet d'obtenir un régime dépourvu de tous les composés toxiques et non digestibles avec un rendement favorable au cours du développement. Néanmoins cette technique de purification est onéreuse. D'autre part, il faut faire des essais qui consistent à associer la farine de fenouil à d'autres protéines végétales telles que les protéines de mauve, de coton, de céleri ou de cardan car à titre d'exemple, la supplémentation de la farine de mauve avec les protéines de coton a montré une bonne acceptabilité et une bonne relance de la croissance pondérale chez les rats ayant subi un régime carencé en protéines (93).

Enfin, cette étude contribuera à la mise en valeur des protéines végétales comme nouvelles sources susceptibles d'être exploitées à l'échelle industrielle en vue de leurs utilisations en alimentations animale et humaine.

QUATRIEME PARTIE

ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES DE FENOUIL PAR CHROMATOGRAPHIE

Les méthodes micro analytiques comme la chromatographie en phase gazeuse (C.P.G), la chromatographie en phase liquide à haute performance (H.P.L.C), la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (C.G/S)... sont très utilisées pour l'analyse qualitative et quantitative de divers composés parmi lesquels les huiles essentielles.

En effet, ces méthodes utilisent des techniques de séparation et d'analyse de structures chimiques (à l'état de trace).

Les huiles essentielles fraîchement extraites des fenouils de Honaine et de Béni-Ouarsous sont analysées par C.P.G aux fins d'obtenir une approche pour la classification et l'identification des deux fenouils.

I - ANALYSE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *FOENICULUM VULGARE* MILL. UTILISANT LA CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE (C.P.G)

I.1 COMPOSITION CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE FENOUIL

L'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de fenouil a fait l'objet de plusieurs travaux. En effet :

- En 1967, Toth L. [94] a trouvé comme composé majoritaire le trans - anéthole sur de jeunes plantes.
- Karlsen et al. [95] ont identifié en 1969 plus de 21 composés d'huile essentielle de fenouils doux (var. dulce) et amer (var. vulgare) parmi lesquels le trans-anéthole, l'estragole et la fenchone qui étaient majoritaires. Le reste des composés qui représentent 1 à 5% de l'huile totale dans la fraction des monoterpènes sont inscrits dans l'ordre de sortie suivant : alpha-pinène, camphène, bêta-pinène, alpha - phellandrène, myrcène, limonène, bêta-phellandrène, gamma-terpinène, cis-

ocimène, terpinolène et p-cymène.

Il a été noté d'importantes différences dans la composition de l'huile entre les deux variétés.

- Une étude menée en 1977 par Embong M.B. et al. [96] sur les variétés douce et vulgare du fenouil a montré la présence de 69% d'anéthole dans l'huile essentielle du fenouil doux et 39% dans l'huile essentielle de l'espèce vulgare. Le limonène était présent à 8% pour l'huile de fruit et à 20% dans celle de l'herbe.
- En 1982, Formacek V. et Kubeczka K.H. [2] se sont intéressés à l'essence des fruits mûrs du fenouil (variété vulgare) qu'ils ont obtenue par distillation à la vapeur d'eau. L'analyse par C.P.G a permis d'identifier les composés suivants et dans l'ordre donné : gamma - terpinène (19,50%) ; para-cymène (3,1%) ; fenchone (3,2%) ; estragole (58,4%) ; géraniol (7,7%).
- Dans ses travaux en 1988, Katsiotis [97] a rapporté que le composé principal de l'huile essentielle du fruit de fenouil doux était le trans-anéthol (> 83%) suivi de l'estragole, de la fenchone, de l'anisaldéhyde et du limonène (à concentrations relatives de < 1 à < 5%) et d'une très faible quantité de cis-anéthole (< 1,0%).
- Un travail relatif à l'huile essentielle de plantules cultivées in vitro de fenouil amer a été mené par Lamarti et al. [98] en 1993. Une analyse par C.P.G soit directement à l'aide d'une platine D.C.I (désorption - concentration - introduction), soit par extraction au pentane et purification par passage sur une colonne de gel de silice a permis d'identifier 28 composés parmi lesquels le trans-isomyristine et le trans-isodillapiole qui sont signalés pour la première fois chez le fenouil mais en faible proportion. Les deux techniques d'extraction donnent des résultats sensiblement identiques. Le pourcentage d'hydrocarbures monoterpéniques est légèrement plus élevé et celui des arylpropènes plus faible pour la technique de désorption (tableau N° XXXII).

| N° pic | Composés | Temps de rétention t _r (mn) | Platine D.C.I. (%) | Extraction par solvant (%) |
|--------------------------------------|---------------------|--|--------------------|----------------------------|
| Hydrocarbures monoterpéniques | | | | |
| 1 | Alpha-pinène | 9,6 | 2,30 | 2,24 |
| 2 | Camphène | 10,2 | 0,10 | Traces |
| 3 | Sabinène | 11,3 | 0,10 | Traces |
| 4 | Béta-pinène | 11,6 | 0,95 | 0,93 |
| 5 | Béta-myrcène | 12,3 | 0,10 | Traces |
| 6 | Alpha-phellandrène | 13,0 | 13,9 | 13,4 |
| 7 | Alpha terpinène | 13,5 | 0,20 | 0,10 |
| 8 | p-cymène | 13,6 | 0,10 | Traces |
| 9 | Béta-phellandrène | 14,2 | 0,40 | 0,40 |
| 10 | Limonène | 14,3 | 1,70 | 1,63 |
| 11 | Gamma-terpinène | 15,7 | 1,30 | 1,24 |
| 13 | terpinolène | 17,3 | 0,66 | 0,63 |
| Total (%) | | | 3,6 | 3,5 |
| Monoterpènes oxygénés | | | | |
| 12 | Fenchone | 16,7 | 0,9 | 0,88 |
| 14 | Linalol | 17,5 | 0,50 | 0,45 |
| 15 | Fenchol | 18,3 | 0,70 | 0,70 |
| 16 | Camphre | 19,5 | 0,04 | 0,04 |
| 17 | Terpinène-4-ol | 21,4 | 0,50 | 0,50 |
| 18 | Acétate de fenchyle | 23,7 | 0,90 | 0,90 |
| 19 | Carvone | 24,4 | 0,10 | 0,05 |
| Total (%) | | | 64,6 | 75,8 |
| Arylpropènes | | | | |
| 20 | Estragole | 22,3 | 1,20 | 1,25 |
| 21 | Anisaldéhyde | 24,0 | 0,20 | 0,20 |
| 22 | Cis-anéthole | 24,6 | 1,70 | 1,80 |
| 23 | Trans-anéthole | 26,3 | 11,30 | 11,50 |
| 24 | Myristicine | 35,2 | 1,60 | 1,70 |
| 25 | Trans-myristicine | 36,4 | 0,54 | 0,54 |
| 26 | Dillapiole | 38,7 | 55,5 | 56,0 |
| 27 | Trans isodillapiole | 39,5 | 0,71 | 0,72 |
| 28 | Apiole | 40,4 | 1,90 | 2,10 |
| Total (%) | | | 100 | 99,9 |

TABLEAU N° XXXII : Pourcentages des différents constituants de l'huile essentielle de plantule de fenouil amer de 30 jours après extraction par du pentane ou après la technique de désorption (platine D.C.I) [98]

- Badoc et al. [99] se sont intéressés en 1994 à l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* mill. (subsp. Piperitum). L'huile extraite au pentane est analysée par CPG et les pics obtenus sont identifiés par CG/SM. L'étude a porté sur deux fenouils du nord de la France (tableau N° XXXIII). Il est important de noter que les deux huiles présentent des différences dans l'aspect quantitatif.

| Composés | H.E de Cannes (%) | H.E de Meze (%) |
|-----------------------|-------------------|-----------------|
| Alpha-pinène | 0,80 | 0,60 |
| Sabinène | 0,40 | 0,20 |
| Myrcène | 0,90 | 0,80 |
| Alpha-phellandrène | 0,80 | 0,40 |
| p-myrcène | 3,80 | 7,30 |
| Limonène | 52,40 | 56,90 |
| Gamma-terpinène | 12,10 | 5,10 |
| Fenchone | 0,30 | 0,30 |
| Terpinolène | 5,50 | 9,20 |
| Trans-anéthole | 0,40 | 0,30 |
| Pipériténone | 0,60 | 0,80 |
| Oxyde de pipériténone | 21,50 | 14,20 |

TABLEAU N° XXXIII : Principaux constituants de l'huile essentielle des fruits de deux fenouils du nord de la France [99]

- En 1995, une étude concernant l'hybridation entre les variétés vulgare et dulce du fenouil a fourni une espèce typiquement allogame. Les auteurs [100] ont montré également que l'hybridation entre la subsp. Piperitum et vulgare est possible et conduit à des fenouils rustiques dont le profil chimique de l'huile essentielle est intermédiaire à ceux des parents : riche en fenchone suivi de l'alpha-pinène , du limonène et du trans-anéthole.

- Le *Foeniculum vulgare* mill. a fait l'objet d'une étude utilisant la CG/SM comme moyen d'analyse sur 103 lots de fruits de fenouils de diverses origines [101]. Le genre ne renferme qu'une espèce, *Foeniculum vulgare* mill. que l'on peut diviser en deux sous-espèces :
 - subsp. *Piperitum* (Ucria) cont., le profil de l'huile essentielle des fruits présente très peu de (E) - anéthole et des pourcentages élevés de limonène et de γ -terpinène et se distingue par la présence de deux monoterpènes oxygénés, la pipériténone et l'oxyde de pipériténone.
 - subs.vulgare, le profil de l'huile essentielle des fruits permet de distinguer des lots riches en chémodème myristicine et deux séries de lots présentant beaucoup d'estragole et / ou de (E)- anéthole.
- A la série 1 est superposée une variété vulgare où la proportion en huile essentielle et les teneurs en α -pinène, β -pinène, camphène, myrcène, α -phellandrène, γ -terpinène et fenchone sont plus élevées et le rapport α -pinène/limonène est supérieur à 0,40. On distinguera le chémodème estragole, le chémodène (E) - anéthole et le chémodème α intermédiaire pour lequel les pourcentages d'estragole et de (E) - anéthole sont voisins. Dans cette série, on trouve beaucoup de fenouils sauvages et la quasi-totalité des fenouils amers.
- Quelques fenouils doux ainsi que tous les fenouils asiatiques sont regroupés dans les lots de la série 2. Ils présentent en général une teneur faible en essence et des proportions plus élevées en limonène et/ ou (E) - anéthole. Le rapport α -pinène /limonène est habituellement inférieur à 0,4.
- Les huiles essentielles isolées par hydro distillation de dix échantillons de fruits secs et mûrs de *Foeniculum vulgare* mill. de différentes origines ont été analysés par CG/SM [102]. L'analyse a révélé l'existence de 16 composés principaux de chaque échantillon et notamment : le trans - anéthole, l'estragole, le limonène et la fenchone (composé le plus abondant).
- Les travaux de Ruberto G. et al. [103] ont concerné l'activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de deux fenouils sauvages (*Foeniculum vulgare* mill.) de l'est de la Cécile. Une C.P.G et une CG/SM ont mis en évidence cinq composés en proportion importante à savoir : estragole (52,9% et 57,6%), α -pinène (14,2% et 8,5%), α -phellandrène (7,12% et 11,05%), fenchone (8,06% et 8,67%) et limonène (6,52% et 3,08%). Il est à signaler que la différence

entre les deux huiles essentielles des deux fenouils réside dans l'aspect quantitatif.

- Une étude réalisée en 2001 [104] a porté sur l'analyse chimique des huiles de 13 échantillons de fenouils sauvages récoltés de 13 stations en Italie à latitudes différentes et ayant crûes dans un champ expérimental à pH neutre et dont la texture du sol est donnée comme suit : 36% de sable ; 36% d'argile et 28% de limon. L'analyse chimique de ces huiles essentielles utilisant la C.P.G et la C.G/S.M a mis en évidence cinq chémotypes (groupes chimiques) caractérisés par :

- 1) alpha-phellandrène, estragole et trans-anéthole,
- 2) alpha-pinène, limonène et trans-anéthole,
- 3) estragole et alpha-phellandrène,
- 4) estragole et alpha-pinène,
- 5) alpha-phellandrène.

Les différents groupes et les proportions des constituants majoritaires sont portés dans le tableau N° XXXIV.

| Constituants | N° du groupe | | | | |
|--------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Alpha-pinène | 4,26 | 24,02 | 2,49 | 20,99 | 1,25 |
| Alpha-phellandrène | 23,41 | 0,31 | 32,73 | 9,31 | 82,07 |
| Limonène | 4,15 | 22,68 | 5,57 | 3,10 | 11,35 |
| Fenchone | 9,60 | 1,79 | 8,31 | 3,13 | 1,70 |
| Estragole | 24,52 | 8,77 | 42,96 | 47,25 | 0,14 |
| Trans-anéthole | 30,73 | 28,30 | 3,26 | 7,38 | 0,26 |

TABLEAU N° XXXIV : Constituants les plus importants des huiles essentielles de cinq groupes de fenouils sauvages [104]

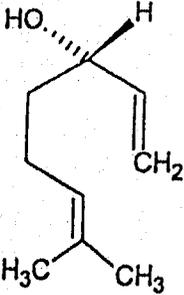
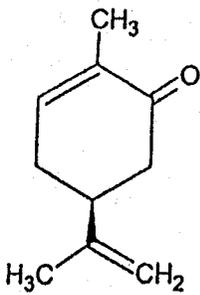
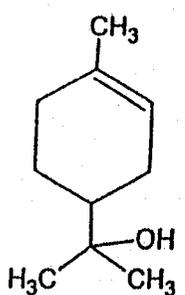
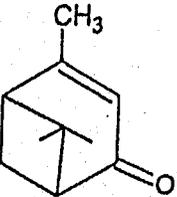
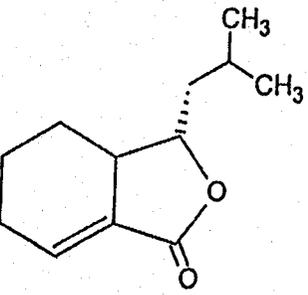
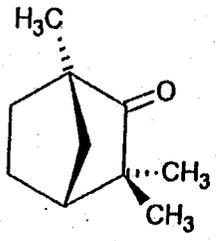
- Les huiles essentielles de fenouils cultivés en Iran et obtenues par hydro distillation et la méthode d'extraction par le (CO₂) supercritique ont fait l'objet d'analyse par chromatographie capillaire en phase gazeuse à ionisation de flamme et à spectromètre de masse en guise de détecteur [105]. Les composés ont été identifiés d'après leurs indices de rétention et leurs spectres de masse. L'influence de différents paramètres comme la pression, la température ou les modifications du volume et du temps de l'extraction sur l'extraction fluide supercritique de l'huile du fenouil a été vérifiée. Sous une pression de 350 atmosphères, une température de 55°C, du méthanol à 5% et un temps d'extraction de 45 minutes, les résultats ont montré que ces conditions opératoires étaient sélectives pour extraire le trans-anéthole. Pour l'huile obtenue par hydro distillation, 16 composés ont été identifiés alors qu'avec le dioxyde de carbone supercritique aux conditions optimales, seulement 9 composés (représentant plus que 99% de l'huile) ont pu être identifiés. Aussi, tous les résultats montrent que dans l'huile essentielle de fenouil iranien, le composé majoritaire est le trans-anéthole.
- Une étude plus récente menée en 2003 par Mimica-Dukic N. et al. [106] a consisté à évaluer le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle des semences de *Foeniculum vulgare* mill. sous l'influence de différentes conditions de l'hydro distillation. Les résultats ont montré que les principaux composants sont : trans-anéthole (72,27% - 74,18%), fenchone (11,32% - 16,35%) et estragole (3,78% - 5,29%).

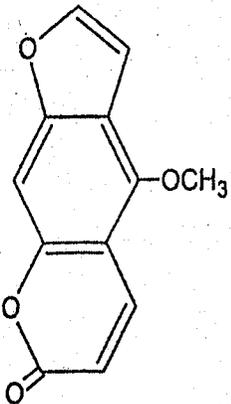
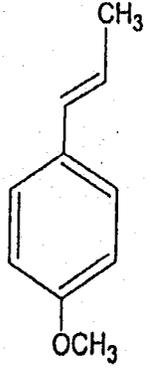
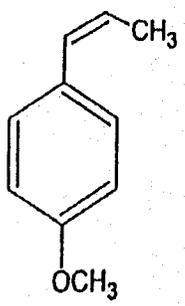
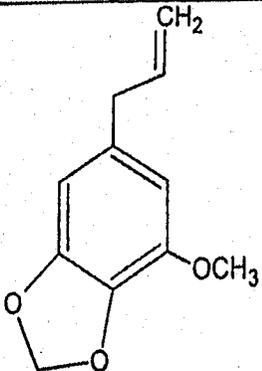
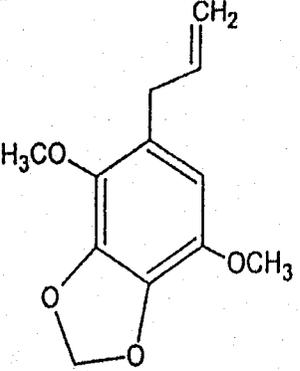
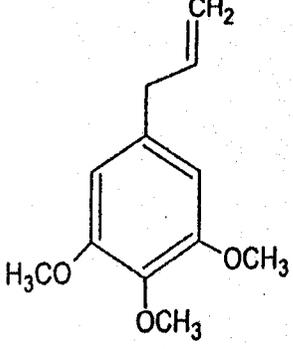
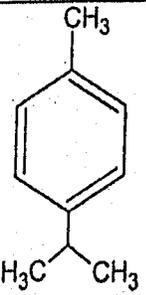
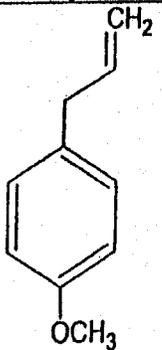
I.2 - Structures de la majorité des composés que renferme l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* mill

Les structures de la plu part des composés que renferme l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* mill. sont données en pages 85, 86 et 87.

| <i>Hydrocarbures monoterpéniques</i> | | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|---|--|
| | | | |
| (+)-limonène | (-)α-pinène | (+) β-pinène | (+)-camphène |
| | | | |
| myrcène | Ocimène | α-terpinène | γ-terpinène |
| | | | |
| (+)-sabinène | Terpinolène | α-phéllandrène | β-phéllandrène |

Monoterpéniques oxygénés

| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| <p>(+)-linalol</p> | <p>(+)-Carvone</p> | <p>α-terpinol</p> |
|  |  |  |
| <p>verbénone</p> | <p>Sédanolide</p> | <p>(+)-Fenchone</p> |

| <i>Arylpropènes</i> | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Bergaptène | E-anéthole | Z-anéthole |
|  |  |  |
| Myristicine | Apiole | Allyl-tétra méthoxylenzène |
|  |  |  |
| p-cymène | Anisaldéhyde | Estragole |

I.3. CONDITIONS OPERATOIRES

Le choix des conditions opératoires pour l'analyse des huiles essentielles est très important car ces dernières constituent des mélanges très complexes (elles renferment des constituants qui diffèrent par leur polarité, leur concentration et leur volatilité).

Nos échantillons ont été analysés sous les conditions opératoires suivantes :

- Chromatographe : Varian CP 3800 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID).
- Colonne capillaire HP – 1 (25m x 0,2mm d.i).
- Débit et type de gaz : hélium à 2 ml/mn.
- Température :
 - . Injecteur : 250°C
 - . Détecteur : 280°C
 - . Four :
 - * Température initiale : 60°C pendant 6 minutes.
 - * Température finale : 250°C à raison de 5°C/minute.
- Quantité injectée : 2 µl dans le mode split.
- Vitesse de déroulement du papier 0,56 cm/min.

I.4. RESULTATS ET DISCUSSION

1.4.1 - Huile essentielle de Honaine

Les tableaux N° XXXV, XXXVI et XXXVII regroupent les résultats issus de l'analyse par C.P.G des huiles essentielles de fenouil de Honaine dans l'ordre respectif suivant : huile essentielle fraîchement extraite et conservées à 27°C et 45°C pendant 6 mois.

Aussi, les pics représentatifs des composés chimiques identifiés sont illustrés dans les chromatogrammes des figures (n° 16, 17 et 18).

| N° pic | Temps de rétention tr (mn) | Composés | Pourcentage (%) |
|--------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 6 | 8,972 | Alpha-pinène | 4,9376 |
| 7 | 9,463 | Camphène | 0,3298 |
| 9 | 10,345 | Béta-pinène | 0,4074 |
| 10 | 10,545 | Myrcène | 1,9557 |
| 13 | 11,360 | Alpha-phellandrène | 1,8187 |
| 14 | 11,807 | p-cymène* | 13,5223 |
| 15 | 11,967 | Limonène | 7,5320 |
| 17 | 12,861 | Gamma-terpinène | 0,0318 |
| 21 | 14,010 | Fenchone | 14,7250 |
| 22 | 14,227 | Linalol | 0,2230 |
| 39 | 17,386 | - | 7,7742 |
| 44 | 19,000 | Estragole * | 3,4169 |
| 45 | 19,197 | Verbénone * | 3,1411 |
| 46 | 19,518 | Anisaldéhyde | 0,4990 |
| 48 | 20,206 | (E) - anéthole | 23,1148 |
| 49 | 20,434 | - | 1,1861 |
| 52 | 21,424 | - | 3,1499 |
| 57 | 22,844 | - | 1,7428 |

**TABLEAU N° XXXV : Résultats de l'analyse de l'huile essentielle
fraîchement extraite de Honaine par C.P.G.**

| N° pic | Temps de rétention tr (mn) | Composés | Pourcentage (%) |
|--------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | 8,957 | Alpha-pinène | 2,4549 |
| 2 | 10,540 | Myrcène | 1,4335 |
| 3 | 11,137 | - | 12,7922 |
| 4 | 11,352 | Alpha-phellandrène | 1,3325 |
| 5 | 11,750 | p-cymène* | 5,1070 |
| 6 | 11,926 | Limonène | 9,5032 |
| 7 | 12,864 | Gamma-terpinène | 0,4406 |
| 8 | 13,948 | Fenchone | 14,0556 |
| 10 | 17,351 | - | 14,2308 |
| 11 | 18,933 | Estragole * | 1,2667 |
| 12 | 19,137 | Verbénone * | 0,8992 |
| 13 | 20,112 | E - anéthole | 34,7907 |
| 14 | 20,432 | | 0,4382 |
| 15 | 21,418 | | 0,8378 |

TABLEAU N° XXXVI : Résultats de l'analyse de l'huile essentielle de Honaine conservée à 27° C pendant 6 mois par C.P.G.

| N° pic | Temps de rétention tr (mn) | Composés | Pourcentage (%) |
|--------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | 8,969 | Alpha-pinène | 1,7238 |
| 2 | 10,550 | Myrcène | 0,9684 |
| 3 | 11,147 | - | 9,1561 |
| 4 | 11,365 | Alpha-phellandrène | 1,0224 |
| 5 | 11,762 | p-cymène* | 3,7614 |
| 6 | 11,938 | Limonène | 4,7127 |
| 7 | 12,876 | Gamma-terpinène | 0,4948 |
| 8 | 13,957 | Fenchone | 15,3635 |
| 10 | 17,358 | - | 17,1516 |
| 11 | 18,938 | Estragole * | 0,8551 |
| 12 | 19,139 | Verbénone * | 1,0514 |
| 13 | 20,096 | [E] -anéthole | 42,4604 |
| 14 | 20,425 | - | 0,4391 |
| 15 | 21,397 | - | 0,4455 |

**TABLEAU N° XXXVII : Résultats de l'analyse de l'huile essentielle
de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois par C.P.G.**

NB :* Composés détectés mais non identifiés et seulement supposés à partir des données de la bibliographie [98] , [104].

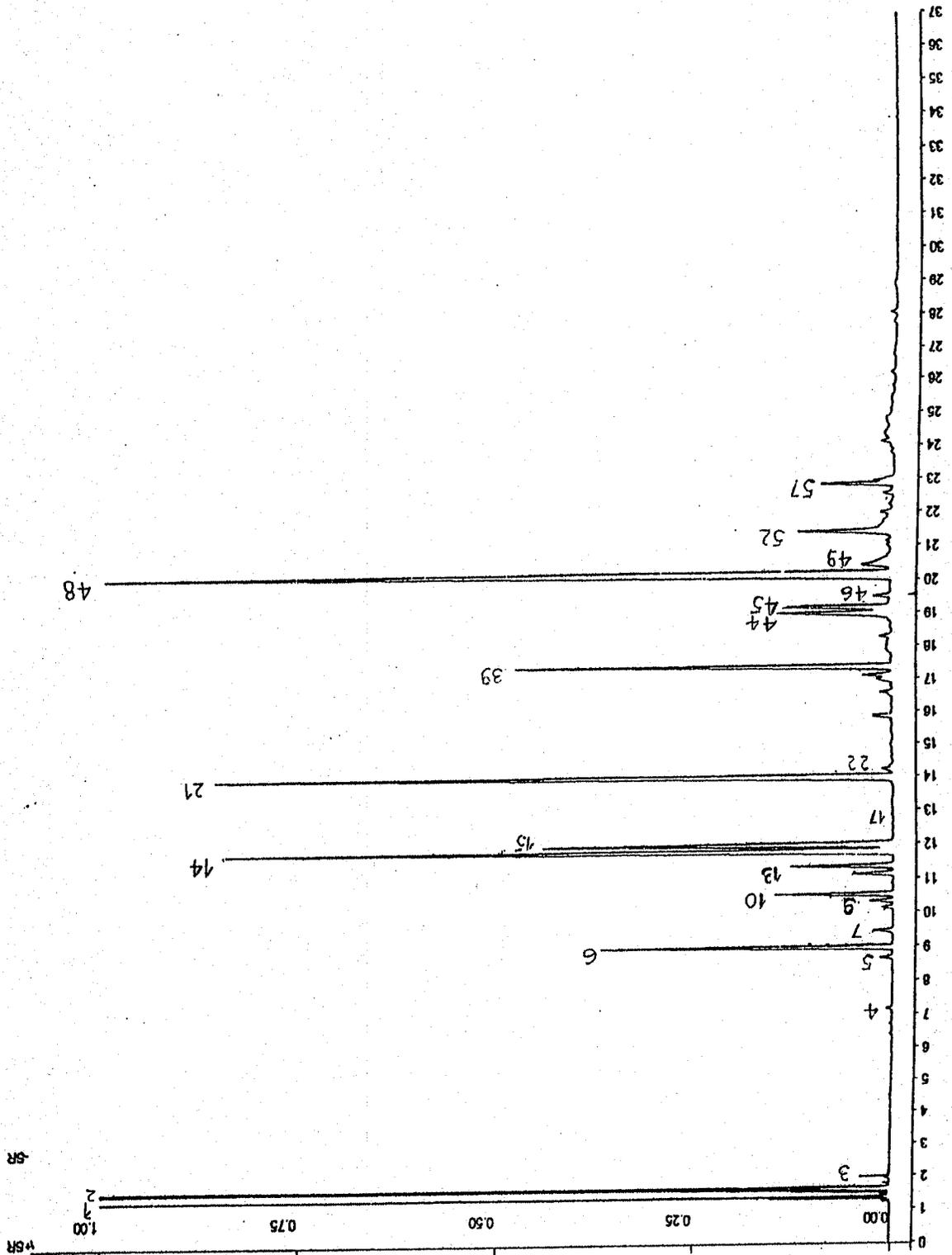


Figure n° 16 : Chromatogramme de l'huile essentielle fraîchement extraite de fenouil de Honain

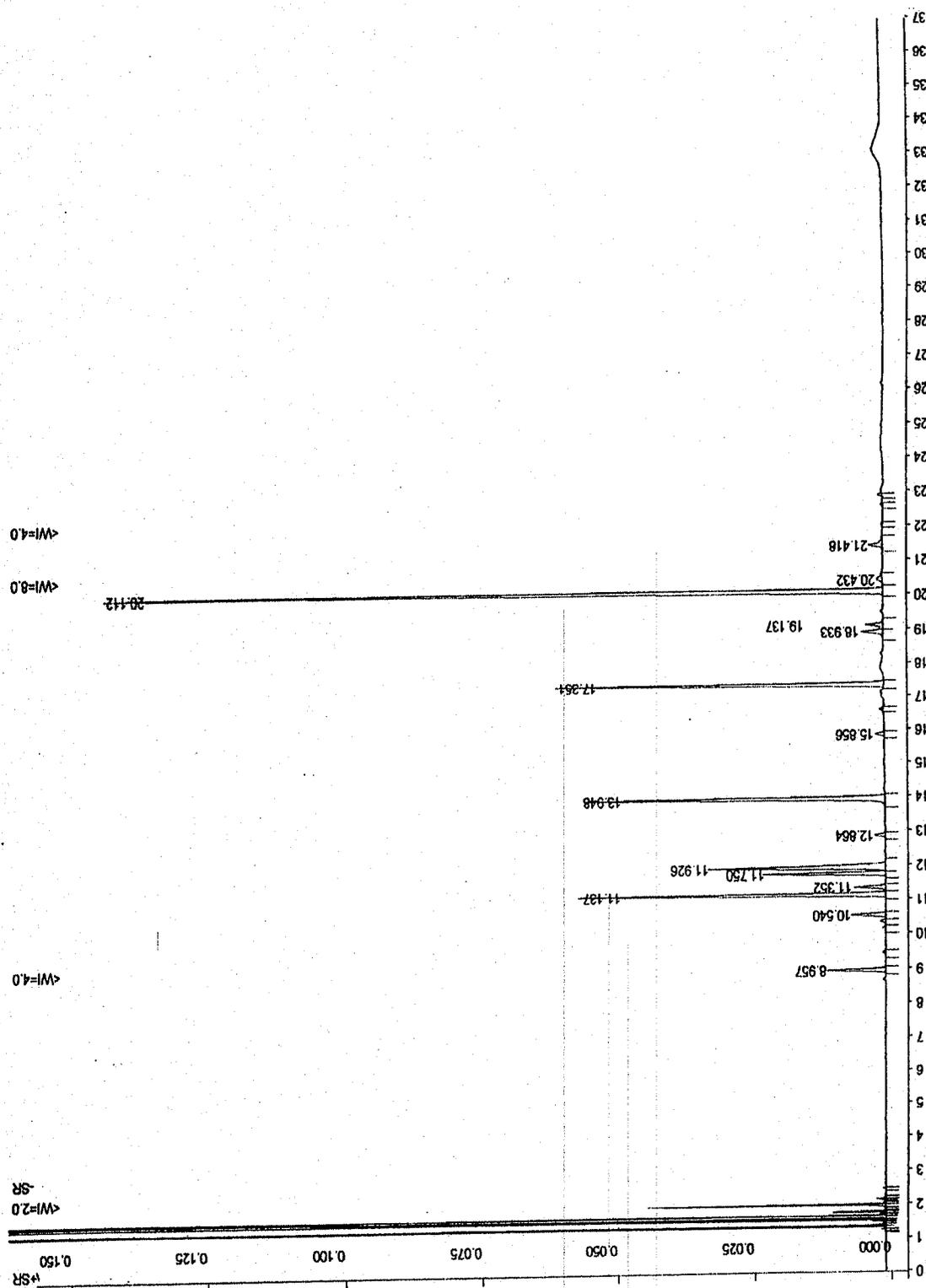


Figure n° 17 : Chromatogramme de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

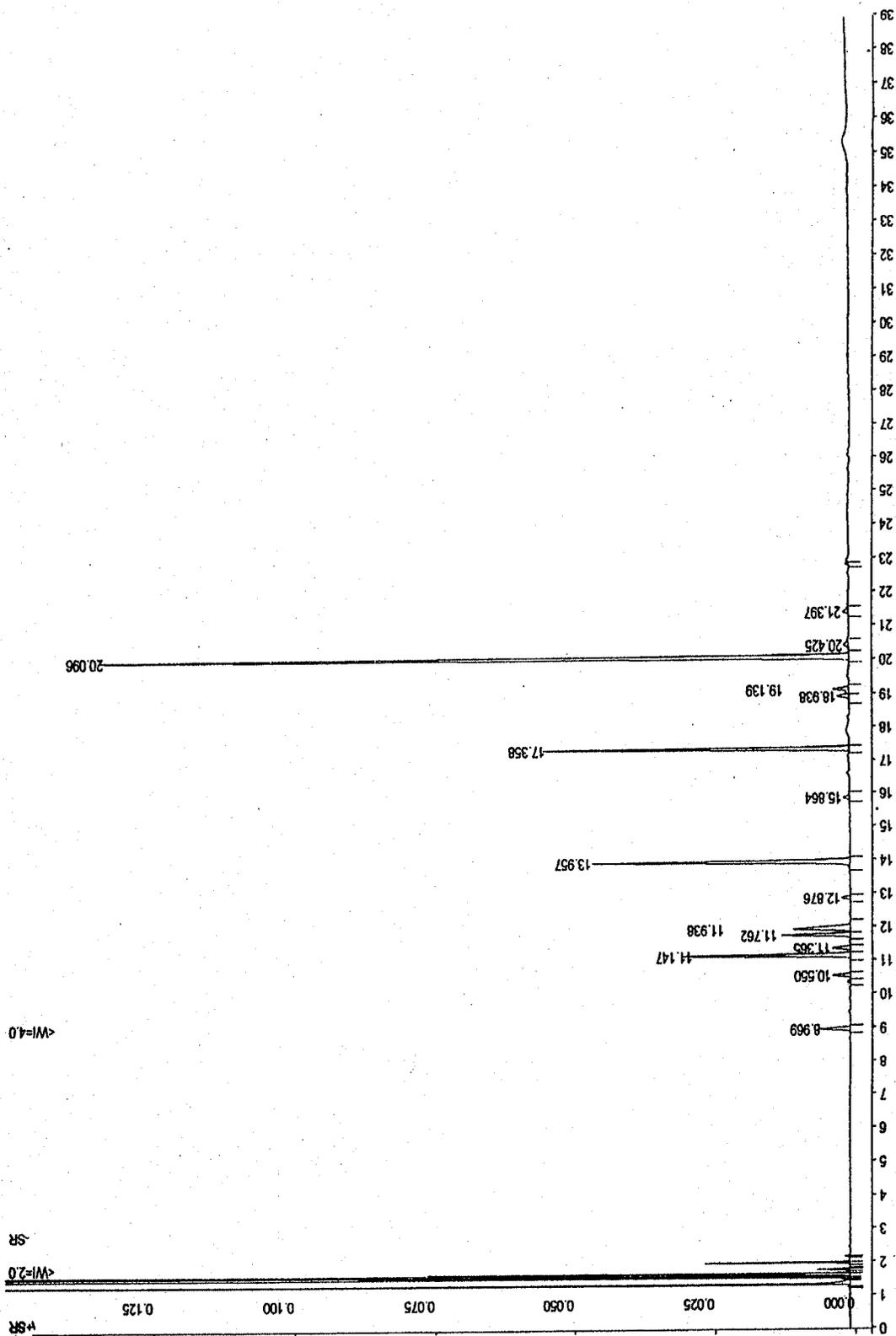


Figure n° 18 : Chromatogramme de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois.

Les chromatogrammes établis ont révélé 77 pics pour l'huile fraîchement extraite, 15 pics pour l'échantillon maintenu à 27°C pendant 6 mois et également 15 pics quand l'huile est conservée à 45°C pendant toujours 6 mois (figures n° 16, 17, 18).

La première remarque importante à mettre en valeur et à laquelle on s'y attendait est que la composition chimique de l'huile essentielle fraîchement extraite est la plus riche comparativement aux autres échantillons (77 constituants contre 15 composés).

Aussi, les chromatogrammes des huiles essentielles conservées à 27°C et 45°C pendant 6 mois présentent les compositions les moins riches renfermant chacune un même nombre de composés (15) ; ce qui peut nous laisser dire que dans ce cas, l'élévation de la température « n'influe » pas sur la constitution des échantillons du point de vue qualitatif (figures n° 17 et n° 18).

Il est à noter également que hormis 7 composés détectés et non identifiés, se trouvant à des pourcentages assez importants, nous pouvons remarquer que les 11 composés ainsi identifiés représentent dans la grande majorité les composés les plus prépondérants dans l'huile essentielle de Honaine fraîchement extraite (tableau N° XXXV). Aussi, cette huile est chémotypée (E) – anéthole et fenchone.

Par ailleurs, l'aspect quantitatif montre que l'huile fraîchement extraite renferme les taux les plus importants en α -pinène, en p-cymène et une teneur plus ou moins stable en fenchone pour toutes les températures considérées. A 27°C, la présence du limonène est la plus marquée. Il est à signaler que le résultat le plus spectaculaire réside dans le fait que la proportion en [E] – anéthole, produit majoritaire, augmente avec le température et le temps de conservation pour atteindre un taux de 42% soit deux fois sa teneur quand il se trouve dans l'huile fraîchement extraite (ce phénomène est observé également pour le γ -terpinène mais d'une manière moins marquée).

Enfin, en comparant le profil chimique de cette huile essentielle à ceux fournis par les travaux de Badoc A. et al en 1994 [99] et qui concernent le fenouil sauvage (*Foeniculum vulgare* Mill. Subsp. *Pipéritum*), à ceux en 1995 par les mêmes auteurs [100] portant sur le profil chimique des huiles essentielles de fenouils hybrides issus de parents de la même sous-espèce [variété vulgare et dulce] ou encore de sous-espèces différentes (*pipéritum* et *vulgare*) et à ceux de Badoc A. et Lamarti A. en 1997 [101] sur le genre *Foeniculum vulgare* Mill, le fenouil de Honaine peut être classé parmi les fenouils de la sous-espèce vulgare (les lots de la série 1) regroupant beaucoup de fenouils sauvages et presque la totalité des fenouils amers [101] et auxquels il est superposé une variété vulgare

où la teneur en huile essentielle est appréciable (2,15%) et des teneurs en α -pinène, β -pinène, camphène, et fenchone sont plus importantes ; le rapport α -pinène / limonène est supérieur à 0,4. Nous pouvons également le classer parmi les fenouils provenant des hybridations possibles et dont les essences sont riches en fenchone, α -pinène, limonène et en (E) - anéthole [100].

| Constituants | Huile essentielle fraîchement extraite | Huile essentielle conservée à 27°C | Huile essentielle conservée à 45°C |
|---------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|
| 1/ α -pinène | 4,94 | 2,45 | 1,72 |
| 2/ α -phellandrène | 1,82 | 1,33 | 1,02 |
| 3/ p-cymène | 13,52 | 5,11 | 3,76 |
| 4/ Limonène | 7,53 | 7,07 | 4,71 |
| 5/ γ -terpinène | 0,03 | 0,44 | 0,49 |
| 6/ Fenchone | 14,73 | 14,06 | 13,48 |
| 7/ Estragole | 3,42 | 1,27 | 0,86 |
| 8/ Verbénone | 3,14 | 0,90 | 0,35 |
| 9/ Anisaldéhyde | 0,50 | - | - |
| 10/ (E) - anéthole | 23,11 | 34,79 | 42,46 |

TABLEAU N° XXXVIII Tableau montrant le changement des pourcentages de constituants issus des huiles essentielles de fenouil de Honaine.

Le tableau ci-dessus fait apparaître le changement des pourcentages des constituants des huiles essentielles de Honaine fraîchement extraite et conservées respectivement à 27°C et 45°C pendant 6 mois.

Ces résultats montrent la diminution des teneurs des constituants numérotés 1- 2- 3- 4- 6- 7- 8 et 9 quand la température augmente. Ce résultat semble être logique car on sait que les huiles essentielles sont des composés très volatils et facilement dégradables donc très « fragiles » et, une température élevée ne peut qu'agir « négativement » sur leurs

compositions. En revanche, le γ - terpinène et le (E) – anéthole (composé majoritaire) ne suivent pas cette logique car leurs teneurs augmentent avec une élévation de température.

I-4-2. Huile de Béni-Ouarsous :

Les résultats de l'analyse par C.P.G des huiles essentielles du fenouil de Béni-Ouarsous fraîchement extraite et conservées à 27°C et 45°C pendant 6 mois sont consignés dans les tableaux N° XXXIX, XXXX et XXXXI.

Les pics représentatifs des composés chimiques identifiés sont illustrés dans les chromatogrammes des figures n° 19, 20 et 21.

| N° pic | Temps de rétention tr [mn] | Composés | Pourcentage [%] |
|--------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 6 | 8,973 | Alpha-pinène | 3,3219 |
| 8 | 9,471 | Camphène | 0,1994 |
| 10 | 10,354 | Béta-pinène | 0,3669 |
| 11 | 10,573 | Myrcène | 7,9952 |
| 13 | 11,158 | - | 3,3008 |
| 14 | 11,380 | Alpha-phellandrène | 4,7106 |
| 15 | 11,804 | p-cymène* | 9,4485 |
| 16 | 12,017 | Limonène | 23,5246 |
| 19 | 12,874 | Gamma-terpinène | 0,1400 |
| 21 | 13,990 | Fenchone | 8,9913 |
| 23 | 14,235 | Linalol | 0,1207 |
| 38 | 17,348 | - | 1,1676 |
| 43 | 18,975 | Estragole * | 2,2234 |
| 44 | 19,172 | Verbénone * | 1,5523 |
| 45 | 19,524 | Anis aldéhyde | 0,2158 |
| 46 | 20,197 | [E] -anéthole | 22,3727 |
| 50 | 21,414 | - | 1,9463 |
| 55 | 22,560 | - | 1,2007 |

TABLEAU N° XXXIX : Résultats de l'analyse de l'huile essentielle fraîchement extraite de Béni-Ouarsous par C.P.G.

| N° pic | Temps de rétention tr[mn] | Composés | Pourcentage [%] |
|--------|---------------------------|--------------------|-----------------|
| 3 | 8,961 | Alpha-pinène | 0,7686 |
| 5 | 10,349 | Béta-pinène | 0,3463 |
| 6 | 10,545 | Myrcène | 2,3330 |
| 7 | 11,144 | - | 7,4364 |
| 8 | 11,358 | Alpha-phellandrène | 0,4606 |
| 9 | 11,771 | p-cymène * | 9,5834 |
| 10 | 11,976 | Limonène | 57,4874 |
| 11 | 12,867 | Gamma-terpinène | 0,5702 |
| 12 | 13,945 | Fenchone | 2,2977 |
| 21 | 17,339 | - | 1,2602 |
| 25 | 18,923 | Estragole * | 1,5140 |
| 26 | 19,124 | Verbénone * | 0,1545 |
| 27 | 19,503 | Anis aldéhyde | 0,1345 |
| 28 | 20,062 | [E] - anéthole | 2,5191 |
| 31 | 21,381 | - | 2,6847 |
| 34 | 22,550 | - | 4,4606 |

TABLEAU N° XXXX : Résultats de l'analyse de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois par C.P.G.

| N° pic | Temps de rétention tr [mn] | Composés | Pourcentage [%] |
|--------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | 8,965 | Alpha-pinène | 0,4657 |
| 2 | 10,545 | Myrcène | 1,5676 |
| 3 | 11,140 | - | 3,8667 |
| 4 | 11,358 | Alpha-phellandrène | 0,2824 |
| 6 | 11,762 | p-Cymène* | 13,5428 |
| 7 | 11,946 | Limonène | 60,6446 |
| 8 | 12,867 | Gamma-terpinène | 0,5487 |
| 10 | 13,946 | Fenchone | 2,000 |
| 14 | 17,345 | - | 1,9266 |
| 16 | 18,931 | Estragole * | 1,0254 |
| 17 | 20,083 | [E] - anéthole | 2,0922 |
| 18 | 20,433 | - | 0,5233 |
| 19 | 21,419 | - | 0,9565 |
| 21 | 22,602 | - | 6,4685 |

TABLEAU N° XXXXI Résultats de l'analyse de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois par C.P.G.

NB : Composés détectés mais non identifiés et seulement supposés à partir des données de la bibliographie [98],[104].

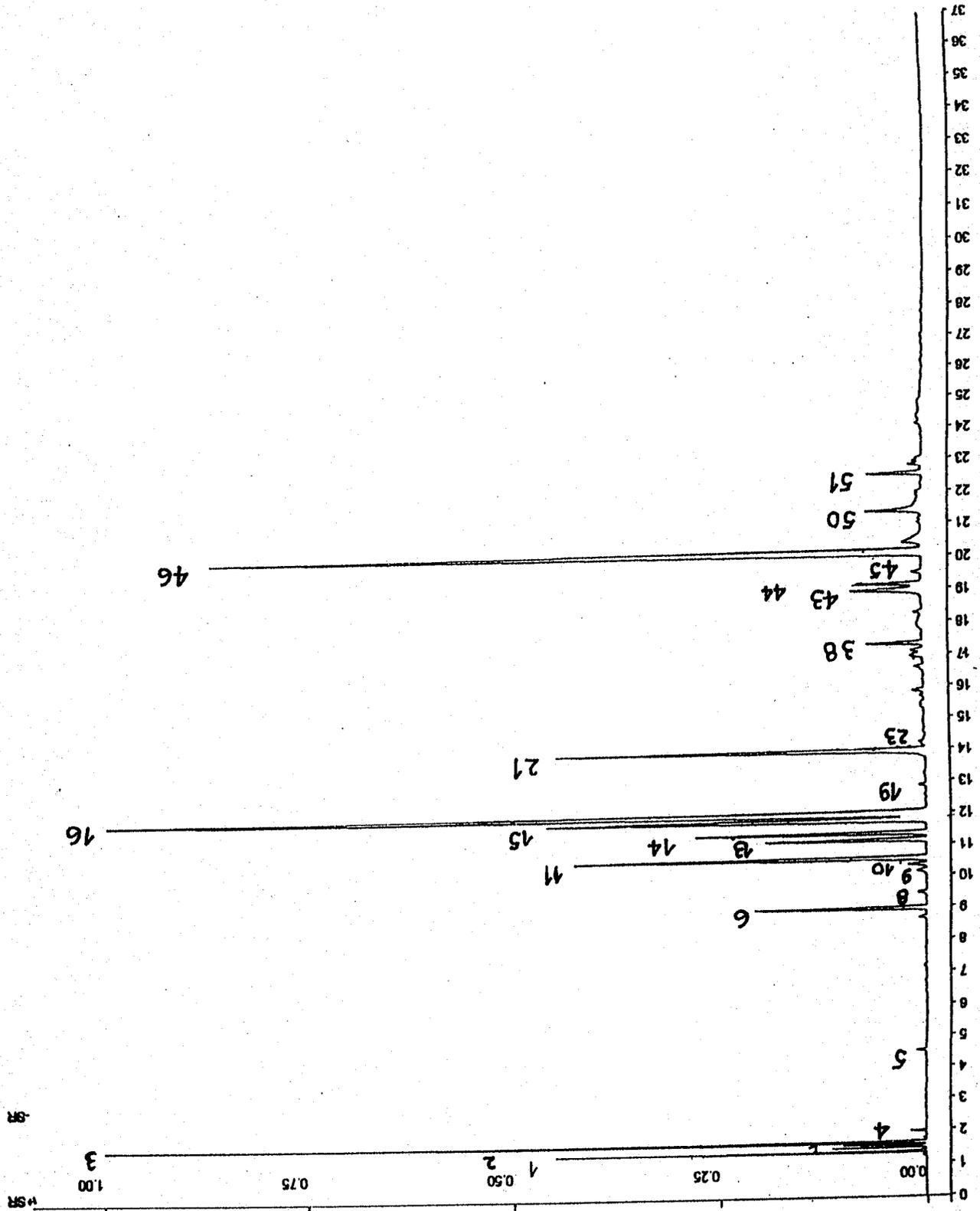


Figure n° 19 : Chromatogramme de l'huile essentielle fraîchement extraite de fenouil de Béni-Ouarsous

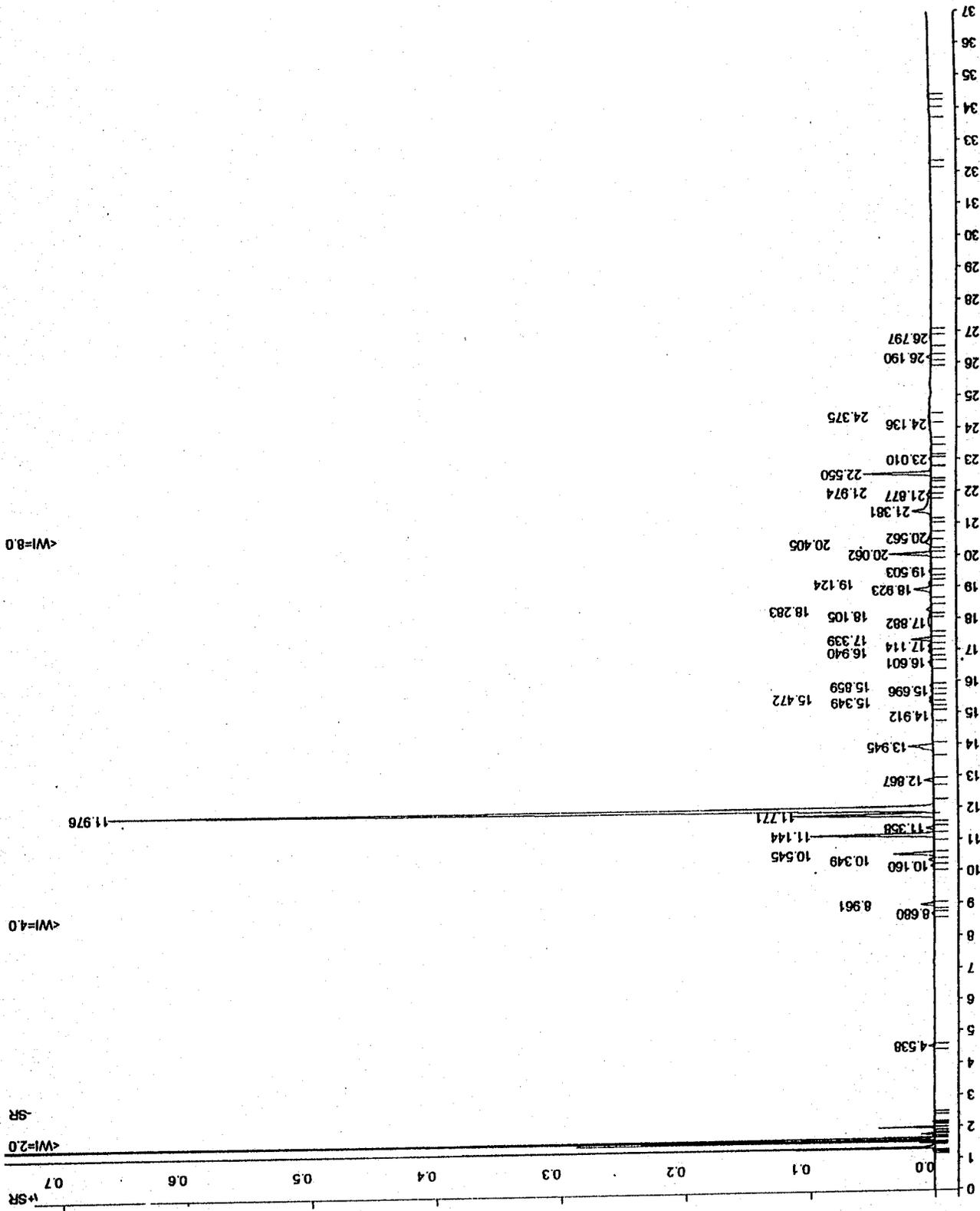


Figure n° 20 : Chromatogramme de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois

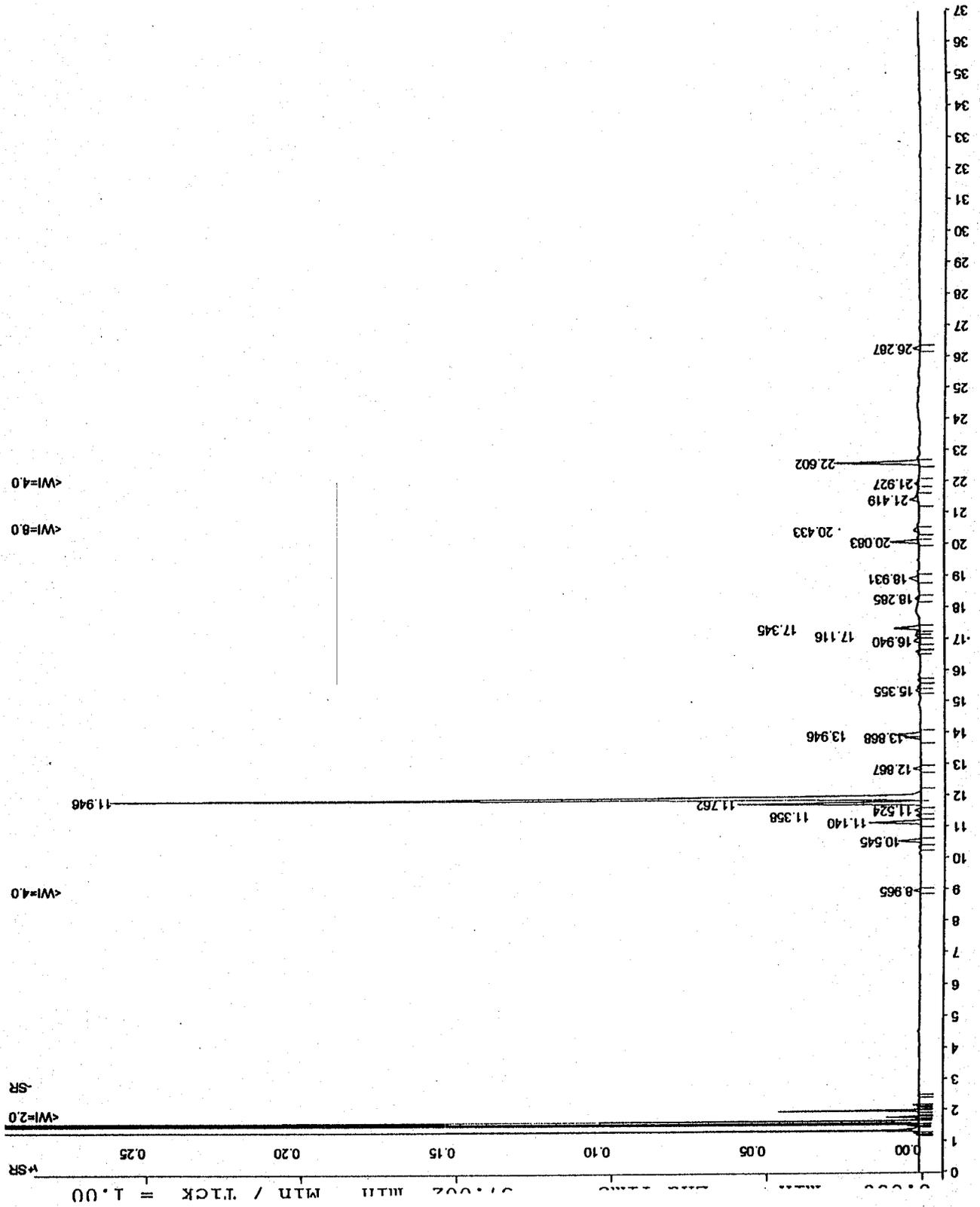


Figure n° 21 : Chromatogramme de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois

L'huile essentielle fraîchement extraite du fenouil de Béni- Ouarsous renferme un même nombre de composés que celle de Honaine soit 77. Pour les échantillons conservés aux températures considérées, les chromatogrammes établis ont révélé 39 pics pour l'huile conservée à 27°C pendant 6 mois et 22 pics pour l'échantillon maintenu à 45°C pendant toujours 6 mois (figures n° 19, 20, 21).

Comme pour l'huile essentielle de Honaine, les échantillons maintenus à 27°C et 45°C pendant 6 mois, fournissent les compositions les moins riches avec respectivement 39 et 22 constituants (figures n° 20 et 21).

Aussi comme pour l'huile de fenouil de Honaine, exceptés 7 composés détectés et non identifiés, se trouvant à des pourcentages assez importants, nous pouvons constater que les 11 composés ainsi identifiées représentent dans la grande majorité les constituants les plus prépondérants pour l'huile essentielle fraîchement extraite. Cette huile est chémotypée limonène et (E) – anéthole (tableau N° XXXIX).

Par ailleurs, l'essence fraîchement extraite du fenouil de Béni-Ouarsous présente les teneurs les plus élevées en α - pinène, myrcène, α - phellandrène, fenchone et (E) – anéthole ; cependant le taux du dernier constituant cité passe de 22% à (2,5 – 2%) pour les températures de 27°C et 45°C.

Il est à noter également que le comportement de l'aspect quantitatif des produits majoritaires des deux huiles issues des fenouils de Honaire et de Béni-Ouarsous est similaire quand la température augmente au cours du temps. En effet, la teneur du limonène qui, au départ était de l'ordre de 23%, atteint plus de 60% soit trois fois plus quand la température est égale à 45°C et pour une durée de conservation de 6 mois (également pour le γ -terpinène).

Enfin, si on compare le profil chimique de cette huile essentielle à ceux déterminés par les travaux de Badoc A. et al en 1994 [99] concernant le *Foeniculum* vulgare Mill. [subsp. Pipéritum], à ceux en 1995 par les mêmes auteurs [100] et portant sur le profil chimique des essences de fenouils hybrides issus de parents de la même sous-espèce (variété vulgare et dulce) ou encore de sous-espèces différentes (pipéritum et vulgare) et à ceux de Badoc A. et Lamarti A. en 1997 [101] sur le genre *Foeniculum* vulgare Mill, le fenouil de Béni-Ouarsous peut être classé parmi les fenouils de la sous-espèce vulgare (les lots de la série 2) regroupent tous les fenouils asiatiques ainsi que quelques fenouils doux [101] qui présentent une teneur en huile essentielle généralement faible (1,08%) et des teneurs en limonène et en (E) – anéthole élevées (respectivement de 23,52% et 22,37%) et

où le rapport α - pinène / limonène est inférieur à 0,4 ; comme il peut être également classé parmi les fenouils issus des hybridations possibles et dont les huiles essentielles sont riches en fenchone, α - pinène, limonène et en (E) – anéthole [100].

| Constituants | Huile essentielle fraîchement extraite | Huile essentielle conservée à 27°C | Huile essentielle conservée à 45°C |
|----------------------------|--|------------------------------------|------------------------------------|
| 1/ α - pinène | 3,32 | 0,77 | 0,47 |
| 2/ α - phellandrène | 4,71 | 0,46 | 0,28 |
| 3/ p-cymène | 9,45 | 9,58 | 8,01 |
| 4/ Limonène | 23,52 | 57,49 | 60,64 |
| 5/ β - terpinène | 0,14 | 0,57 | 0,55 |
| 6/ Fenchone | 8,99 | 2,30 | 2,00 |
| 7/ Estragole | 2,22 | 1,51 | 1,03 |
| 8/ Verbénone | 1,55 | 0,15 | - |
| 9/ Anisaldéhyde | 0,22 | 0,13 | - |
| 10/ (E) - anéthole | 22,37 | 2,52 | 2,09 |

TABLEAU N° XXXXII Tableau montrant la variation des teneurs de constituants des huiles essentielles de fenouil de Béni-Ouarsous

Les résultats que nous avons regroupés dans le tableau ci-dessus correspondent au changement des proportions des constituants de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous au cours de sa conservation aux différentes températures. Nous constatons une évolution de ces résultats similaires à celle obtenue dans le cas de l'huile essentielle de fenouil de Honaine.

En effet, nous remarquons que les teneurs du γ - terpinène et du composé majoritaire (le limonène) augmentent avec la température comme dans le cas précédent ; et que le reste des constituants voient leurs proportions diminuer.

I.4.3 - Comparaison entre les deux huiles essentielles fraîchement extraites

Si on ne tient compte que du profil chimique des deux huiles essentielles fraîchement extraites (on fait abstraction de l'éventuelle appartenance des deux fenouils à l'une ou à l'autre des deux sous-espèces vulgare et pipéritum ou des variétés vulgare et dulce); on constate que leurs compositions chimiques renferment les mêmes constituants mais que leurs teneurs diffèrent et par conséquent, ne sont pas chémotypées de la même façon; l'une ayant un chémodème (E) – anéthole et fenchone (huile essentielle de Honaine) et l'autre limonène et (E) – anéthole (huile essentielle de Béni-Ouarsous). Cela confirme le fait que l'huile essentielle de Béni-Ouarsous est plus acide que celle de Honaine car l'essence de la première station citée est plus riche en limonène, composé considéré comme l'un des précurseurs les plus énergiques de l'acidité libre du milieu [61], [62] et [63].

Par ailleurs, les différences que présentent les compositions chimiques des deux huiles essentielles sont dûes essentiellement comme il a été déjà signalé précédemment (paragraphe I.2. deuxième partie) à l'influence des facteurs écologiques, géographiques, édaphiques et aussi aux conditions climatiques sur la production et la qualité des essences.

I.4.4 - Conclusion

L'application de la C.P.G pour l'analyse des huiles essentielles fraîchement extraites des fenouils de Honaine et Béni-Ouarsous a révélé un même nombre de pics pour les deux huiles (77 pics), a montré qu'elles étaient assez riches en hydrocarbures terpéniques (α -pinène, myrcène, α -phellandrène, limonène...), en monoterpènes oxygénés comme la fenchone et en arylpropènes tel que le trans-anéthole, ce qui rend difficile la classification de ces fenouils parmi l'une ou l'autre des sous-espèces vulgare et pipéritum ou des variétés vulgare et dulce de la sous-espèce vulgare et a permis également de les chémotyper respectivement en (E) [anéthole et fenchone et en limonène et (E)-anéthole.

Aussi, l'action de la température (augmentation de T) sur les deux huiles essentielles lors de leur conservation fait diminuer comme prévu le nombre de constituants. Par ailleurs, les huiles essentielles des deux fenouils conservées respectivement à 27°C et 45°C pendant une même période (6 mois) fournissent les compositions les moins riches (15 constituants pour les échantillons de Honaine et 39 et 22 pour ceux de Béni-Ouarsous).

Il est à noter également et c'est là peut être le résultat le plus important, c'est que les teneurs du γ -terpinène et des composés majoritaires (le trans-anéthole pour l'huile essentielle de Honaine et le limonène pour celle de Béni-ouarsous) augmentent avec la température d'une manière très significative . Ce résultat est inattendu car les essences sont des composés très volatils, facilement dégradables et par conséquent « fragiles » et, une température élevée ne peut qu'agir négativement sur leurs compositions en particulier.

II - APPLICATION DE LA CG/SM A L'ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES DE *FOENICULUM VULGARE* MILL. APRES CONSERVATION

En raison de la complexité des huiles essentielles, leurs analyses nécessitent l'utilisation de techniques performantes et adéquates parmi lesquelles la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse en vue de l'obtention d'une identification totale de leurs constituants.

Dans le chapitre II de la deuxième partie, il est apparu que l'huile essentielle maintenue à basse température et à l'abri de la lumière et air ambiant lors de sa conservation restait relativement stable contrairement à celles conservées à 27°C et à 45°C. A cet effet, on se propose de soumettre nos échantillons d'huile essentielle conservés pendant 6 mois aux mêmes conditions citées, à une analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) aux fins de connaître le comportement et de suivre l'évolution du profil chimique de chaque huile essentielle.

II.1. CONDITIONS OPERATOIRES

L'analyse de nos échantillons par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été exécutée sous les conditions suivantes :

- Type de chromatographe : Varian CP 3800.
- Type de spectromètre de masse : Varian Saturn 2000.
- Type de colonne : DB 5 ms (CP-sil) 8 CB-MS colonne capillaire à faible polarité et à faible bleeding) 30m x 0,248mm di x 0,25 μ m (film thickness).
- Energie d'ionisation électronique : 70 e V.
- Type et débit de gaz vecteur : Hélium à 1ml/mn.

- Programmation de température :
 - Injecteur : 220°C
 - Four
 - Température initiale : 50°C pendant 2 mn.
 - Température finale : 220°C pendant 20 mn. A raison de 4°C/mn.
- Quantité injectée : 0,02µl dans le mode split 1/80.

II.2 - RESULTATS ET INTERPRETATION

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) a été appliquée uniquement pour les échantillons d'huile essentielle des fenouils de Honaine et Béni-Ouarsous considérés aux températures de 4°C, 27°C et 45°C.

II.2.1 - Huile essentielle de fenouil de Honaine

II.2.1.1 - Huile essentielle conservée à T = 4°C :

Les résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois à l'abri d'air ambiant et de lumière sont regroupés dans le tableau N° XXXXIII. Aussi, cette analyse a permis d'identifier 15 composés chimiques dont les pics représentatifs sont illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 22.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-------------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptane | 3,967 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 11,00 |
| 2 | 4- hydroxy-4-Me pentane-2-one | 4,871 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 4,17 |
| 3 | 2,4-diMe hexane | 6,438 | C ₈ H ₁₈ | 114 | 2,54 |
| 4 | α - Pinène | 7,458 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 4,95 |
| 5 | β - Myrcène | 9,318 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,31 |
| 6 | α -Phellandrène | 9,896 | C ₁₀ H ₁₀ | 136 | 14,12 |
| 7 | Cis-ocimène | 9,974 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,08 |
| 8 | p - cymène | 10,535 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 5,03 |
| 9 | Limonène | 10,690 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 4,50 |
| 10 | γ - terpinène | 10,751 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,78 |
| 11 | Fenchone | 12,833 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 14,61 |
| 12 | Estragole | 16,738 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 7,87 |
| 13 | Verbénone | 18,494 | C ₁₀ H ₁₄ O | 150 | 1,38 |
| 14 | Anisaldéhyde | 18,695 | C ₈ H ₈ O ₂ | 136 | 1,62 |
| 15 | (E)-anethole | 19,792 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 23 |

TABLEAU N° XXXXIII : Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

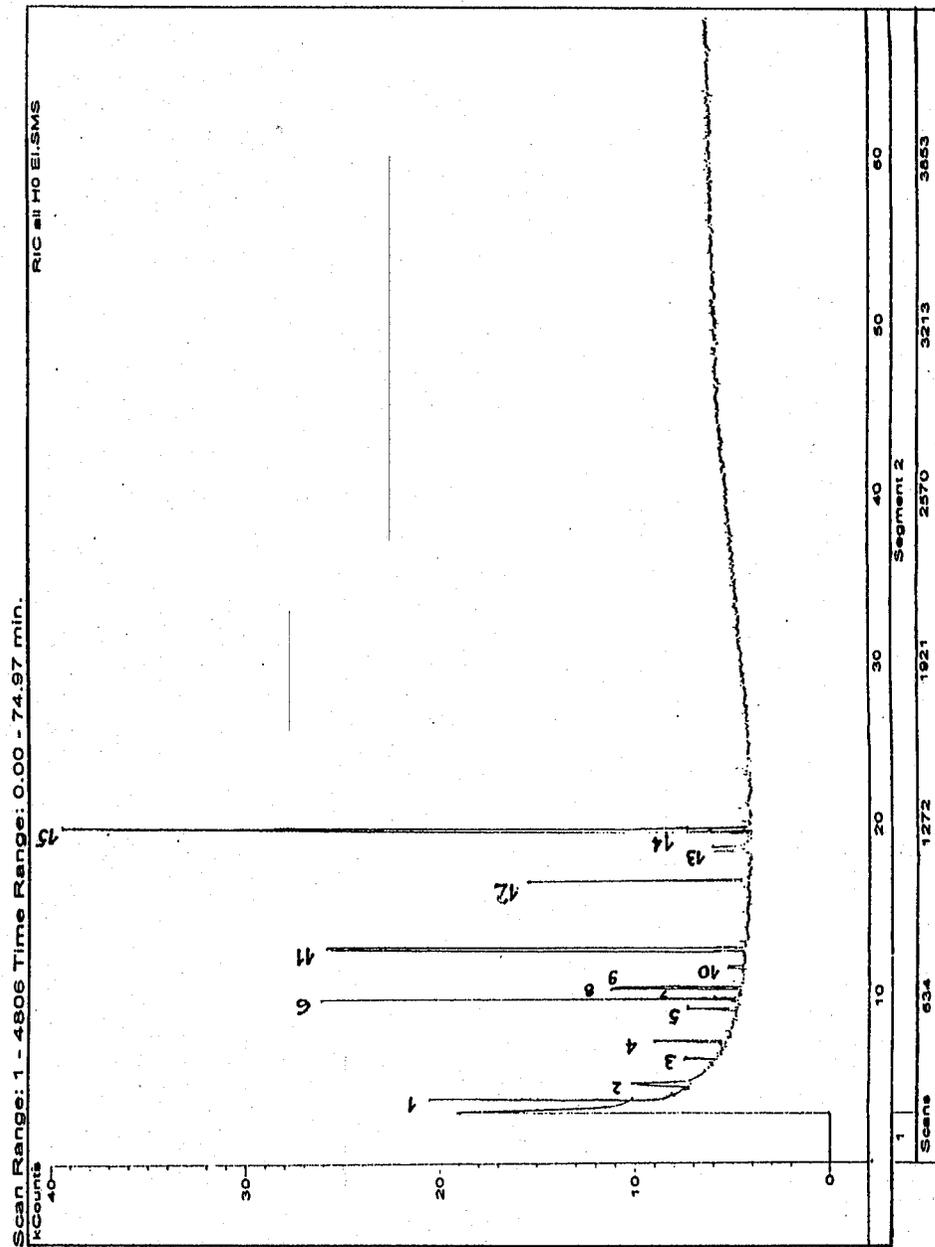


Figure n° 22 : Chromatogramme CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

En se basant sur les fragmentations de divers composés chimiques données par la librairie (base de données) propre à l'appareil , cette analyse quali-quantitative par CG/SM a permis de mettre en évidence 15 composés dont 8 ayant déjà été identifiés lors de l'analyse par CPG de l'huile fraîchement extraite. Les 7 autres constituants identifiés sont représentés par les pics suivants :

- pic n° 1 : 2,4 diméthylheptane
- pic n° 2 : 4 - hydroxy- 4 méthylpentan – 2 – one
- pic n° 3 : 2,4 – diméthylhexane
- pic n° 5 : bêta-myrcène
- pic n° 7 : cis-ocymène
- pic n° 12 : estragole
- pic n° 13 : verbénone

Au vu des résultats obtenus, il apparaît que le trans-anéthole reste le produit majoritaire avec une teneur de 23% suivi de la fenchone et de l' α -phellandrène avec pour proportions respectives 14,61% et 14,12%.

Nous remarquons également l'absence totale du cis-anéthole dont la toxicité est rapportée . De ce fait l'huile essentielle du fenouil de Honaine peut être considérée comme élément non toxique et donc de bonne qualité.

II.2.1.2. Huile essentielle conservée à T : 27°C :

Les résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle du fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois à l'abri d'air ambiant et de lumière sont consignés dans le tableau N° XXXXIV.

Dans ce cas , l'analyse a permis de mettre en évidence 14 composés chimiques dont les pics représentatifs sont illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 23.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-------------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptane | 3,976 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 5,13 |
| 2 | 4- hydroxy-4- Me pentan-2-one | 4,886 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 3,70 |
| 3 | 2,4-di Me hexane | 6,441 | C ₈ H ₁₈ | 114 | 0,85 |
| 4 | α- Pinène | 7,470 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 3,70 |
| 5 | β- Myrcène | 9,327 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,71 |
| 6 | α- Phellandrène | 9,888 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 19,95 |
| 7 | Cis-ocimène | 9,969 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,71 |
| 8 | P - cymène | 10,531 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 3,13 |
| 9 | Limonène | 10,703 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 4,27 |
| 10 | γ - terpinène | 10,758 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,28 |
| (a) | γ - terpinène | 11,736 | | | 0,57 |
| (b) | α- terpinolène | 11,758 | | | 0,57 |
| 11 | Fenchone | 12,826 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 15,13 |
| 12 | Estragole | 16,749 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 11,97 |
| 15 | Trans-anéthole | 19,792 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 28,50 |

TABLEAU N° XXXXIV : Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

Dans le cas de l'échantillon d'huile essentielle de Honaine conservé à 27°C pendant 6 mois, l'analyse par CG/SM a permis de mettre en évidence 14 composés . Toutefois il est à noter la disparition totale de la verbénone et de l'ansaldéhyde et l'apparition d'un nouveau constituant (α- terpinolène) bien qu'il soit présent en très faible quantité.

Le trans-anéthole est toujours le produit majoritaire (28,50%) suivi de l'α-phellandrène (19,95%) et de la fenchone (15,13%).

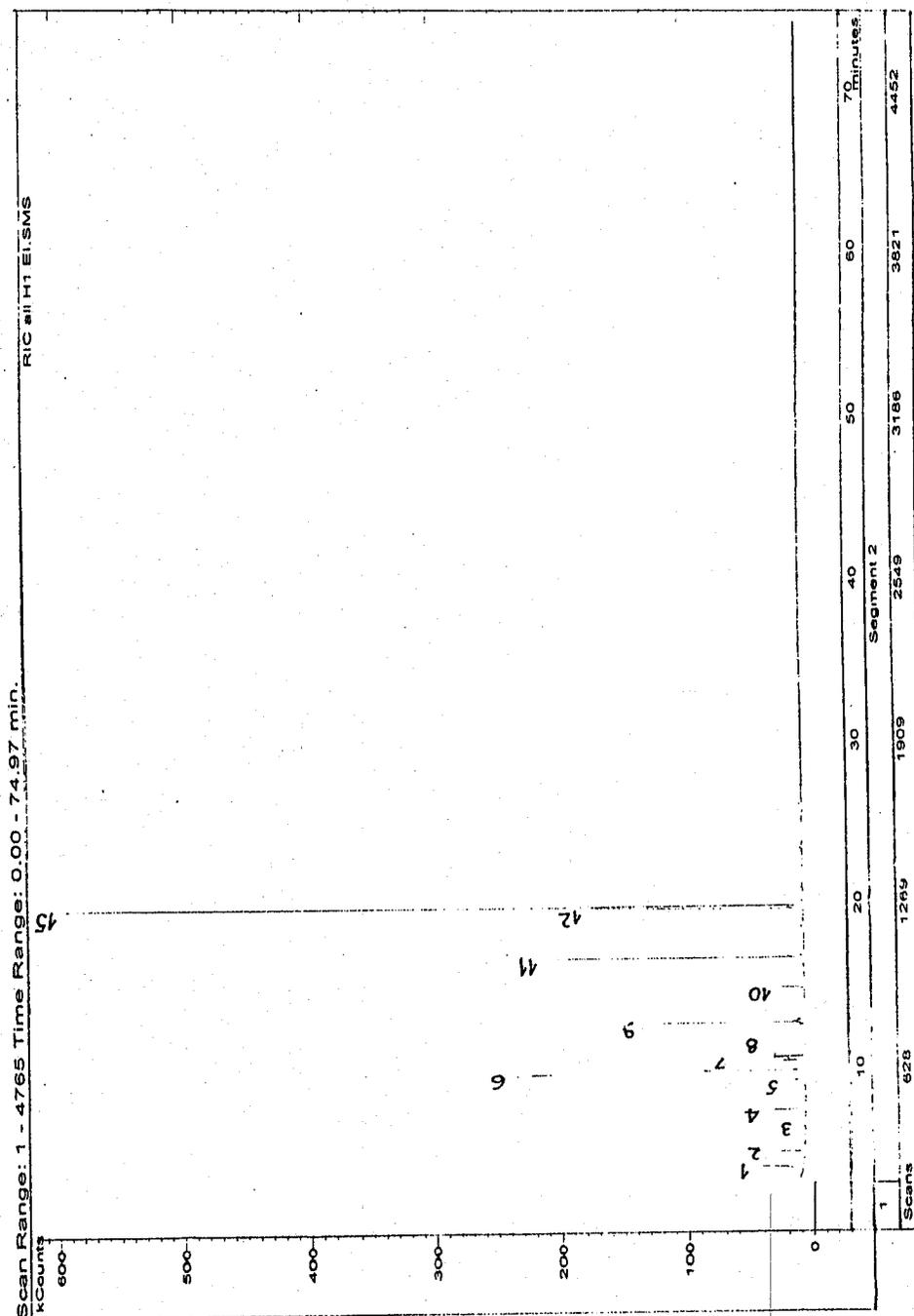


Figure n° 23 : Chromatogramme C.G/S.M de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

II.2.1.3. Huile essentielle conservée à T : 45°C

Le tableau N° XXXXV regroupe les résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle du fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois à l'abri de lumière et d'air ambiant.

Les pics représentatifs des 14 constituants issus de cette analyse sont illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 24.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-------------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptane | 3,983 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 1,50 |
| 2 | 4- hydroxy-4- Me pentan-2-one | 4,900 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 1,02 |
| 3 | 2,4-di Me hexane | 6,454 | C ₈ H ₁₈ | 114 | Trace |
| 4 | α -Pinène | 7,475 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,10 |
| 5 | β- Myrcène | 9,324 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0,50 |
| 6 | α-Phellandrène | 9,897 | C ₁₀ H ₁₀ | 136 | 7,03 |
| 7 | Cis-ocimène | 9,979 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | Trace |
| 8 | p - cymène | 10,537 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 1,50 |
| 9 | Limonène | 10,697 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 4,02 |
| 10 | γ - terpinène | 10,762 | C ₁₀ H ₁₆ | | Trace |
| (a) | γ - terpinène | 11,732 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | Trace |
| (b) | α - terpinolène | 12,718 | | 136 | Trace |
| 11 | Fenchone | 12,861 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 12,54 |
| 12 | Estragole | 16,746 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 16,38 |
| 15 | Trans-anéthole | 19,793 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 50,20 |

TABLEAU N° XXXXV Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

Comme pour l'huile essentielle conservée à 27°C pendant 6 mois l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle conservée à 45°C pendant la même durée révèle les mêmes 14 constituants dont 5 à l'état de trace.

Le produit majoritaire reste toujours le trans-anéthole (50,20%) suivi cette fois-ci de l'estragole, de la fenchone et de l'α-phellandrène avec des proportions respectives de 16,38% ; 12,54% et 7,03%.

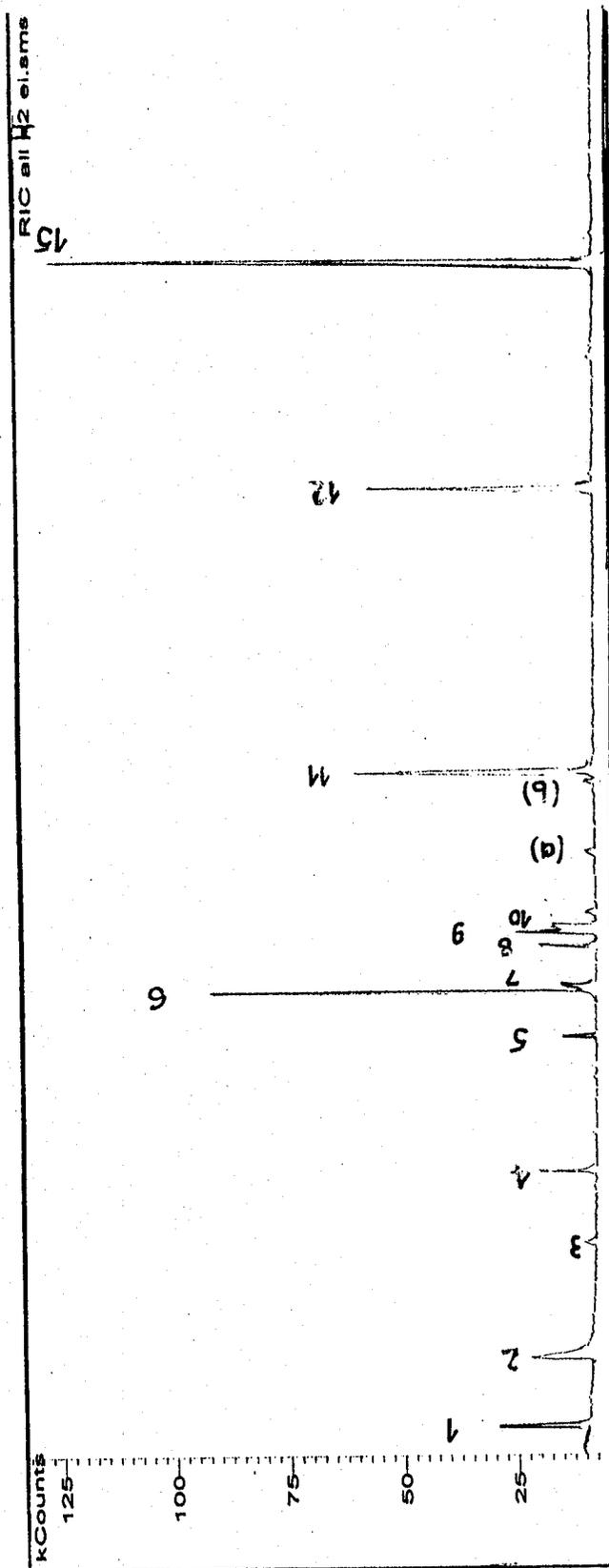


Figure n° 24 : Chromatogramme CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

| Constituants | Huile essentielle fraîchement extraite | Huile essentielle conservée à 4°C | Huile essentielle conservée à 27°C | Huile essentielle conservée à 45°C |
|-------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| α - pinène | 4,94 | 5,13 | 3,70 | 1,50 |
| α - phellandrène | 1,82 | 14,12 | 19,95 | 7,03 |
| p- cymène | 13,52 | 5,03 | 3,13 | 1,50 |
| Limonène | 7,53 | 4,50 | 4,27 | 4,02 |
| γ - terpinène | 0,03 | 2,78 | 2,28 | Trace |
| Fenchone | 14,73 | 14,61 | 15,23 | 12,54 |
| Estragole | 3,42 | 7,87 | 11,97 | 16,38 |
| Verbénone | 3,14 | 1,38 | - | - |
| Anisaldéhyde | 0,92 | 0,98 | - | - |
| (E) - anéthole | 23,11 | 23 | 28,50 | 50,20 |

TABLEAU N° XXXXVI : Tableau montrant le changement des pourcentages des constituants issus des huiles essentielles de fenouil de Honaine

Le tableau ci-dessus montre le changement des teneurs de certains constituants issus des huiles essentielles de fenouil de Honaine fraîchement extraite et conservées pendant 6 mois respectivement à 4°C, 27°C et 45°C.

Au vu des résultats regroupés dans le tableau N° XXXXVI, nous constatons des changements appréciables voire très significatifs des pourcentages des constituants de ces échantillons d'huile essentielle.

En effet, l'augmentation de la température provoque une diminution des teneurs de certains constituants notamment celle de l' α -pinène (4,94% - 1,50%), du p- cymène (13,52% - 1,50%), du limonène (7,53% - 4,02%), de la fenchone (14,73% - 12,54%) , de

la verbénone (3,14% - trace) et de l'anisaldéhyde (0,92% - trace). Nous remarquons toutefois une légère augmentation de la proportion de la fenchone à la température de 27°C pour ensuite décroître.

Le γ - terpinène qui se trouve à l'état de trace dans l'huile essentielle fraîchement extraite, se retrouve toujours à l'état de trace pour l'échantillon conservé à 45°C ; résultat qui semble logique. Cependant les échantillons maintenus à 4°C et 27°C montrent sa présence avec une proportion pratiquement constante et non négligeable (2,78% - 2,28%).

Quant à l'estragole et au (E) - anéthole qui est le constituant majoritaire, ils voient leurs teneurs augmenter avec l'élévation de la température pour passer de 3,42% jusqu'à 16,38% soit (5 fois plus) pour le premier cité et de 23,11% à 50,20%(soit 2 fois plus) pour le second cité. Ce résultat est surprenant car, les essences étant des composés très volatils (« fragiles »), une température élevée doit normalement agir « négativement » sur leurs compositions lors de leur conservation (diminution du taux de la composition et donc de ceux des constituants).

Seul le α - phellandrène ne suit aucune logique car sa teneur évolue en « dents de scie » lors de la conservation des échantillons d'huile essentielle.

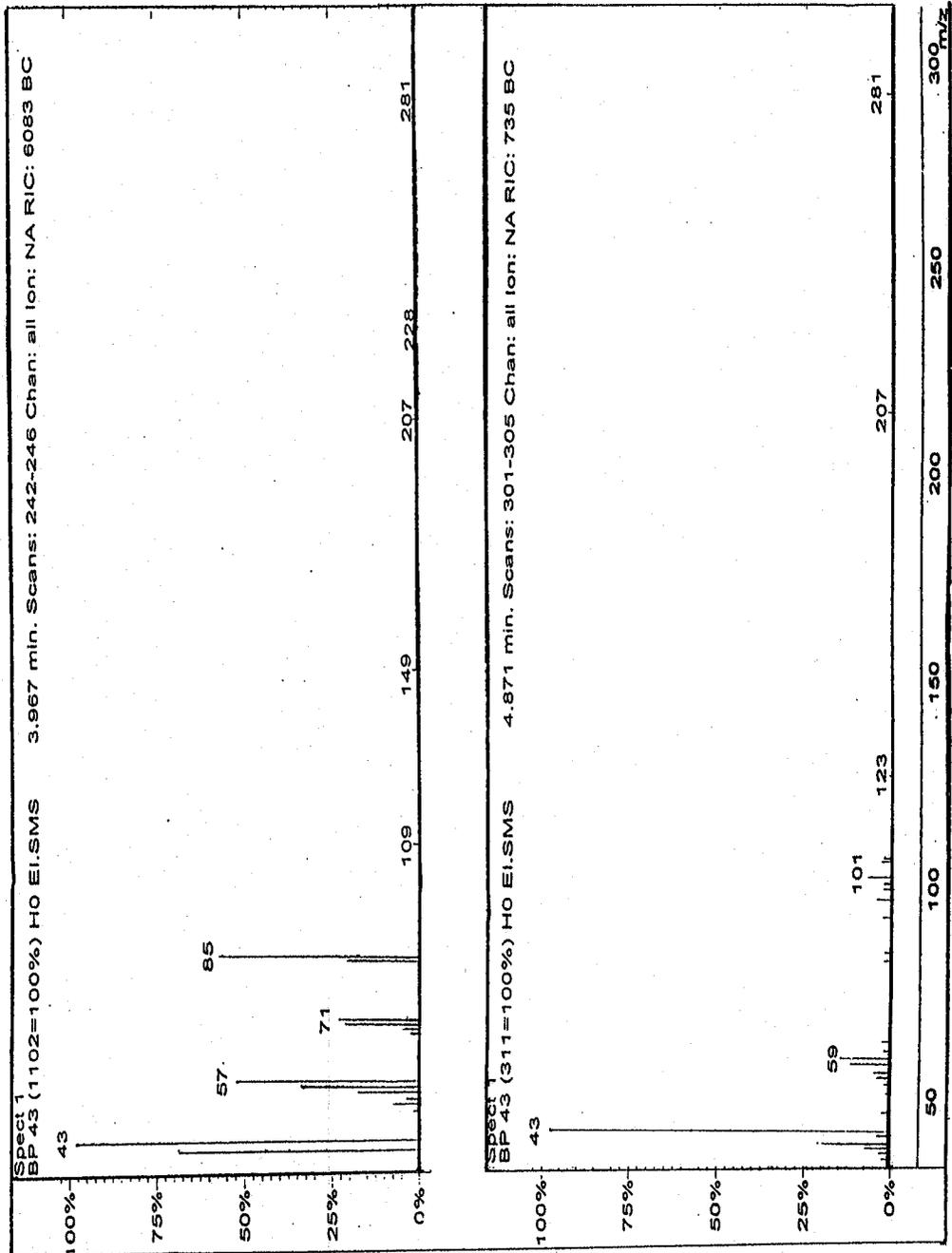


Figure n° 25 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

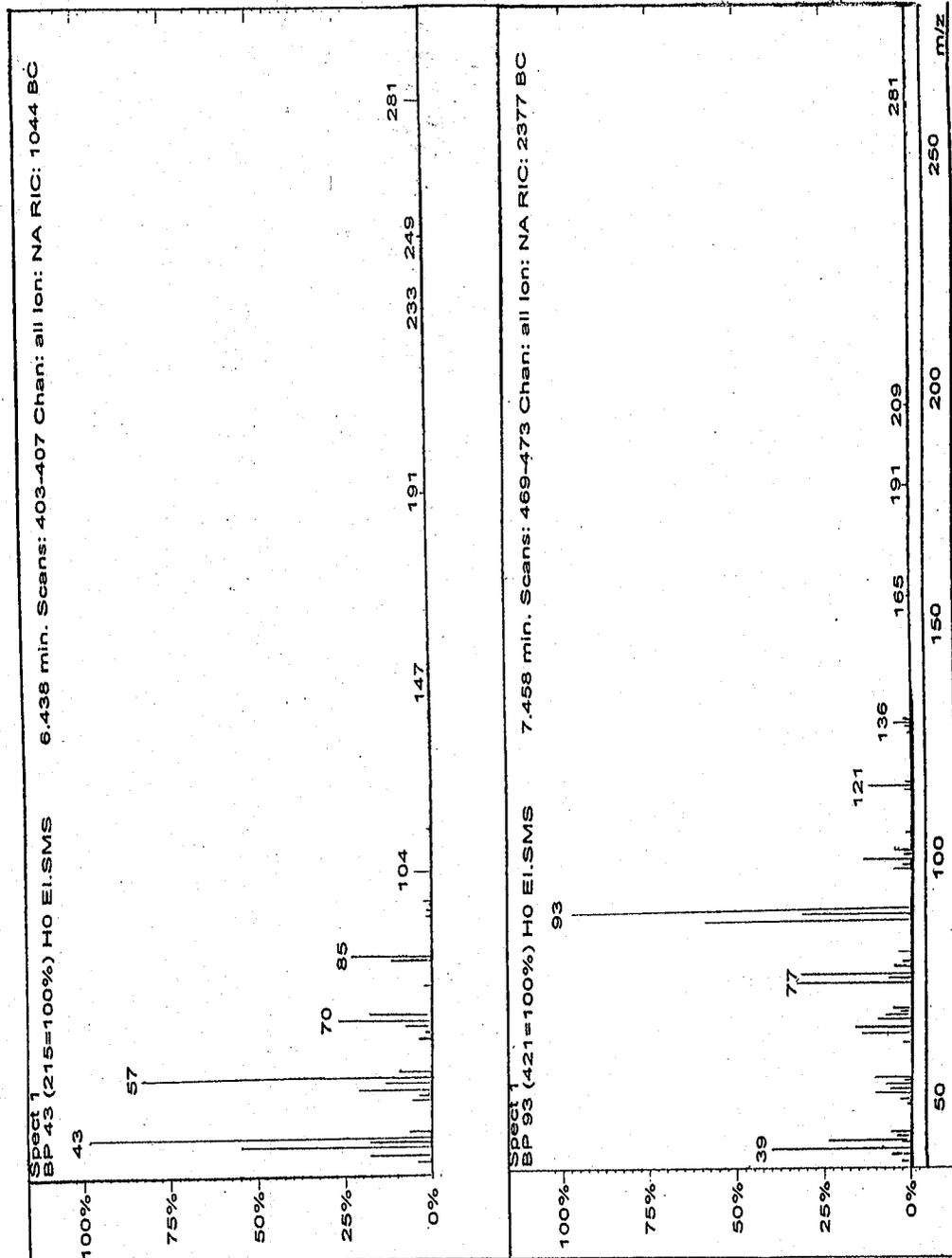


Figure n° 26 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

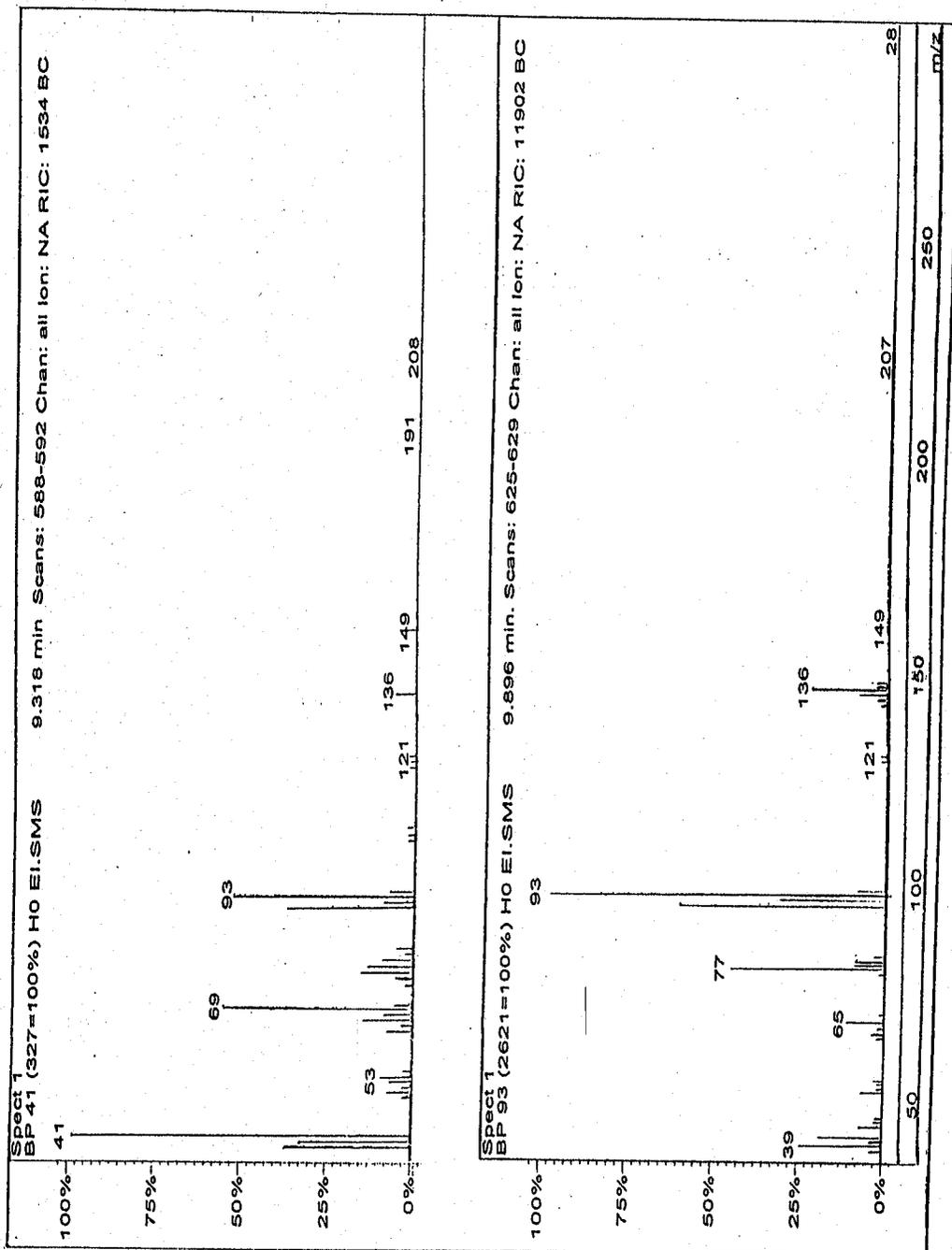


Figure n° 27 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

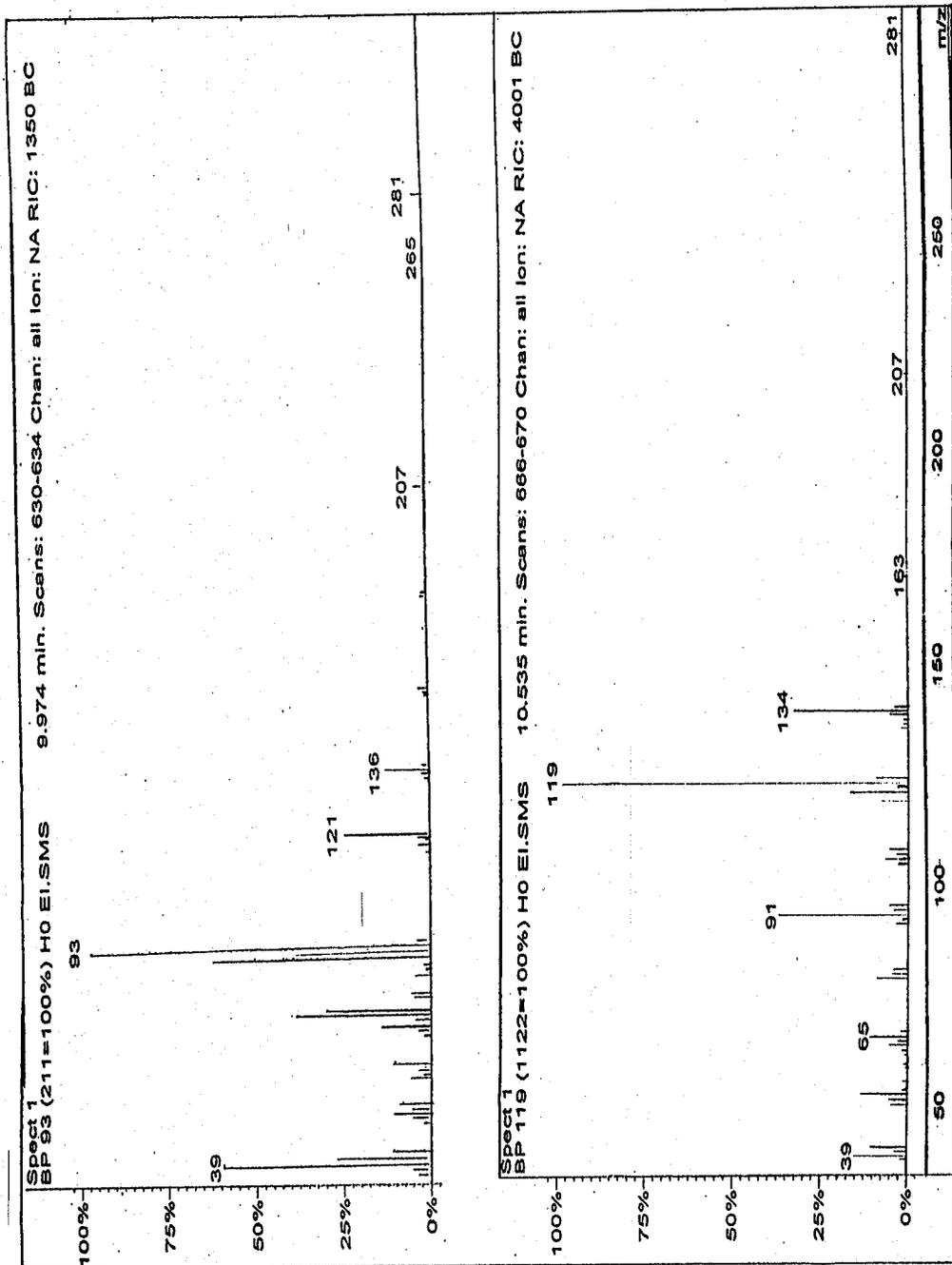


Figure n° 28 : Spectres de masse des composés n° 7 et 8 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

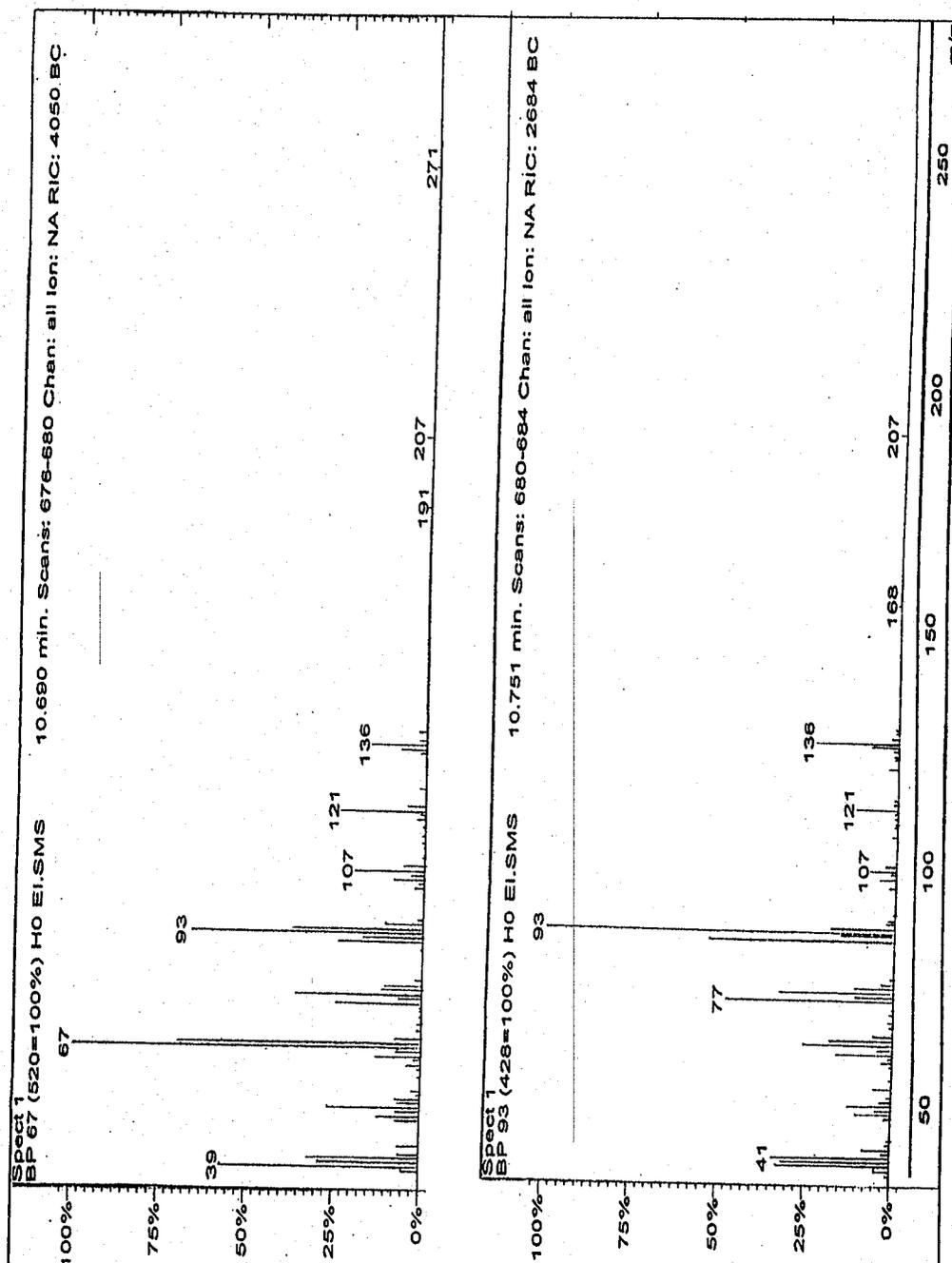


Figure n° 29 : Spectres de masse des composés n° 9 et 10 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

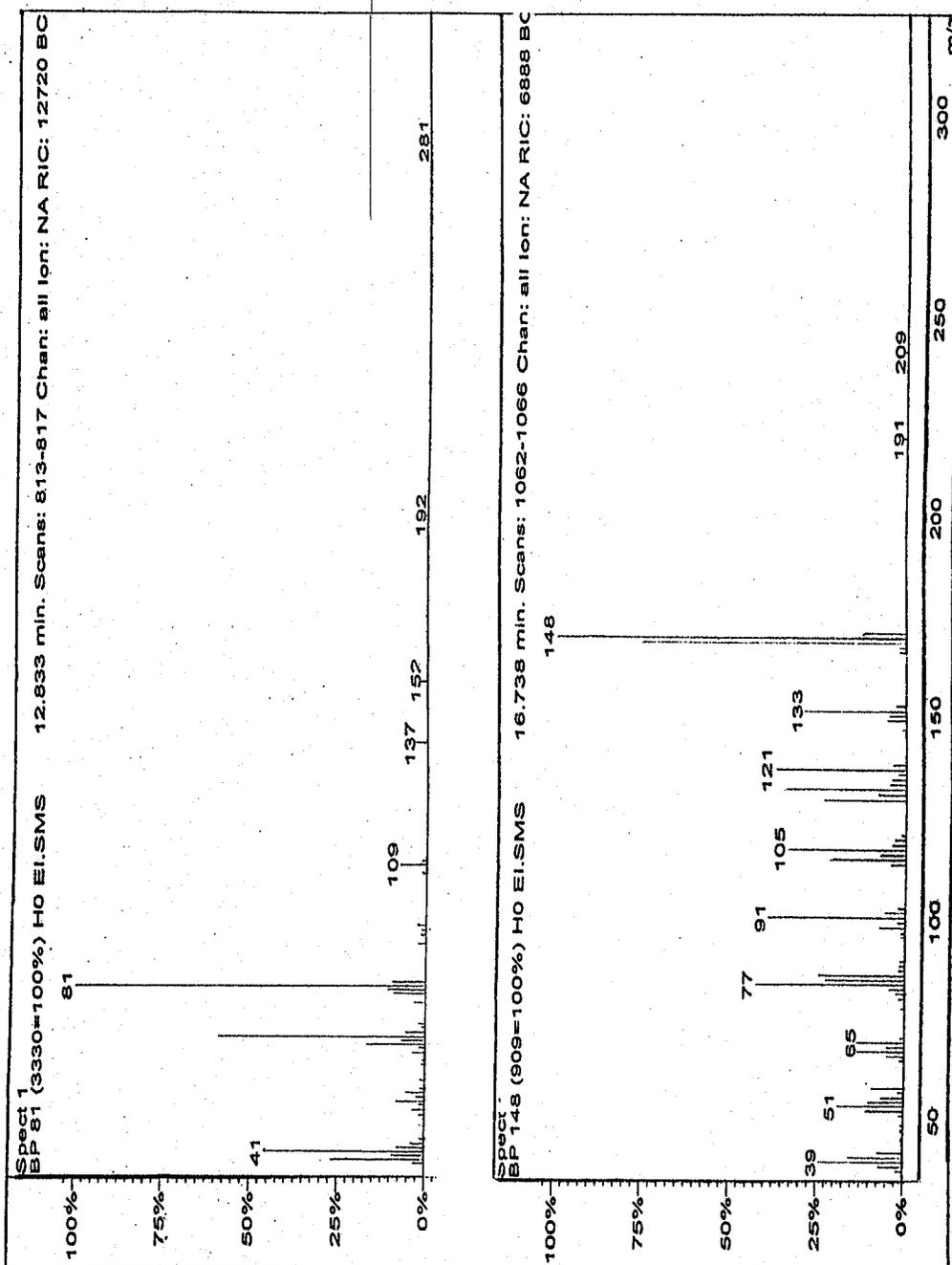


Figure n° 30 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

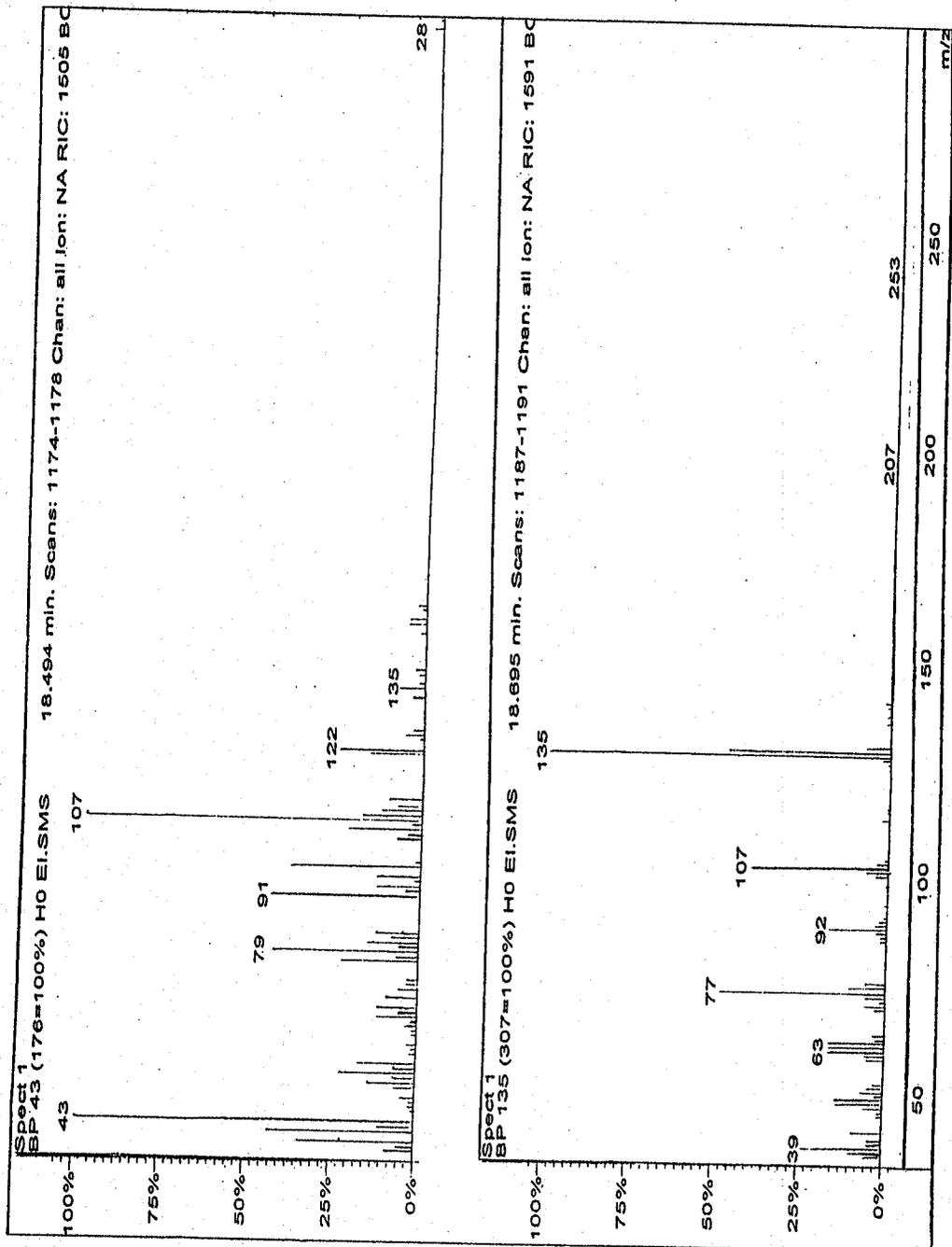


Figure n° 31 : Spectres de masse des composés n° 13 et 14 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

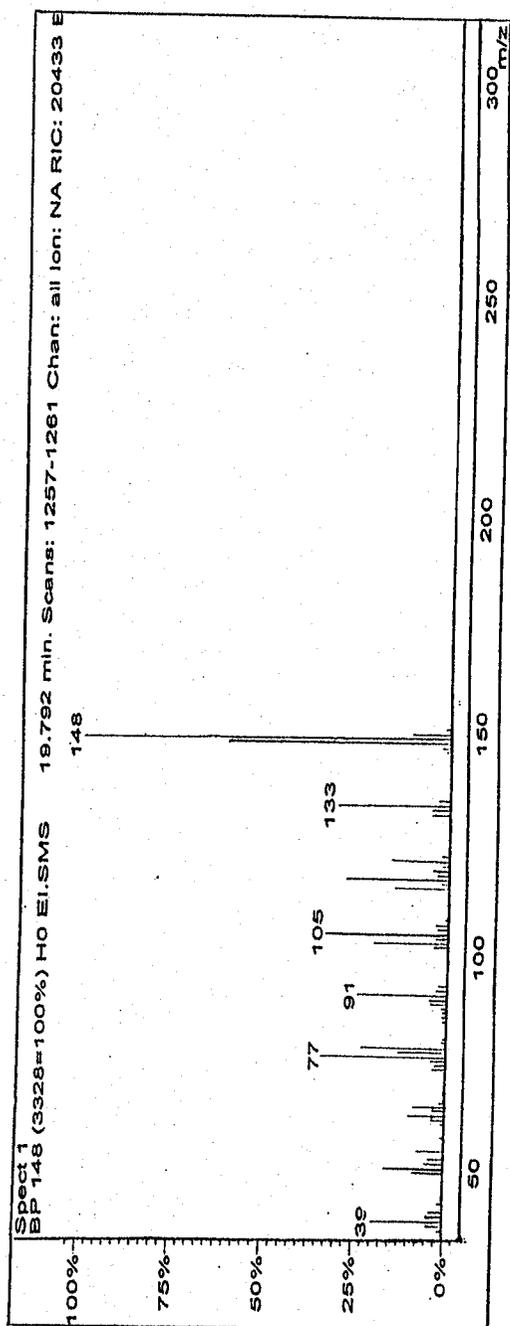


Figure n° 32 : Spectre de masse du composé n° 15 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 4°C pendant 6 mois

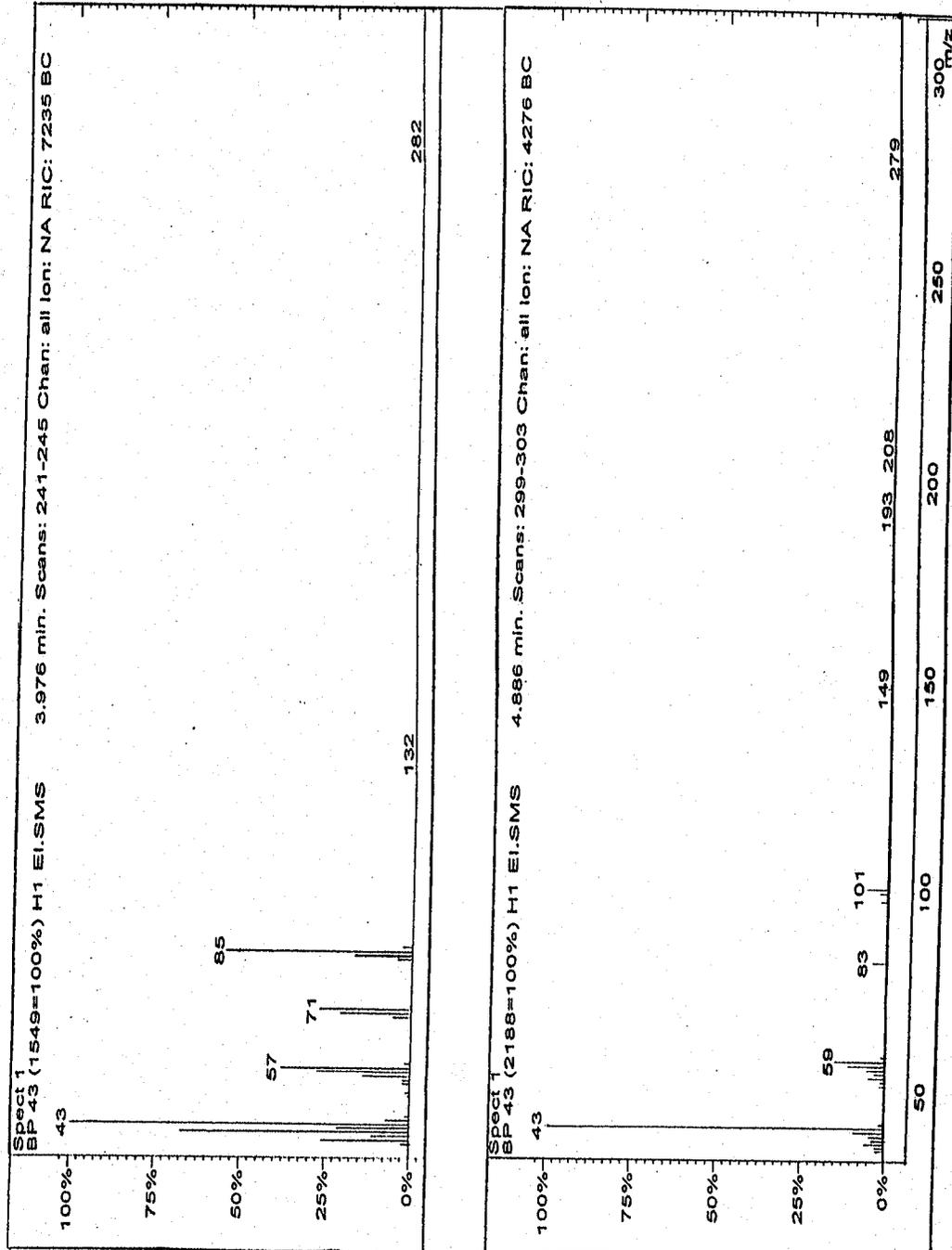


Figure n° 33 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

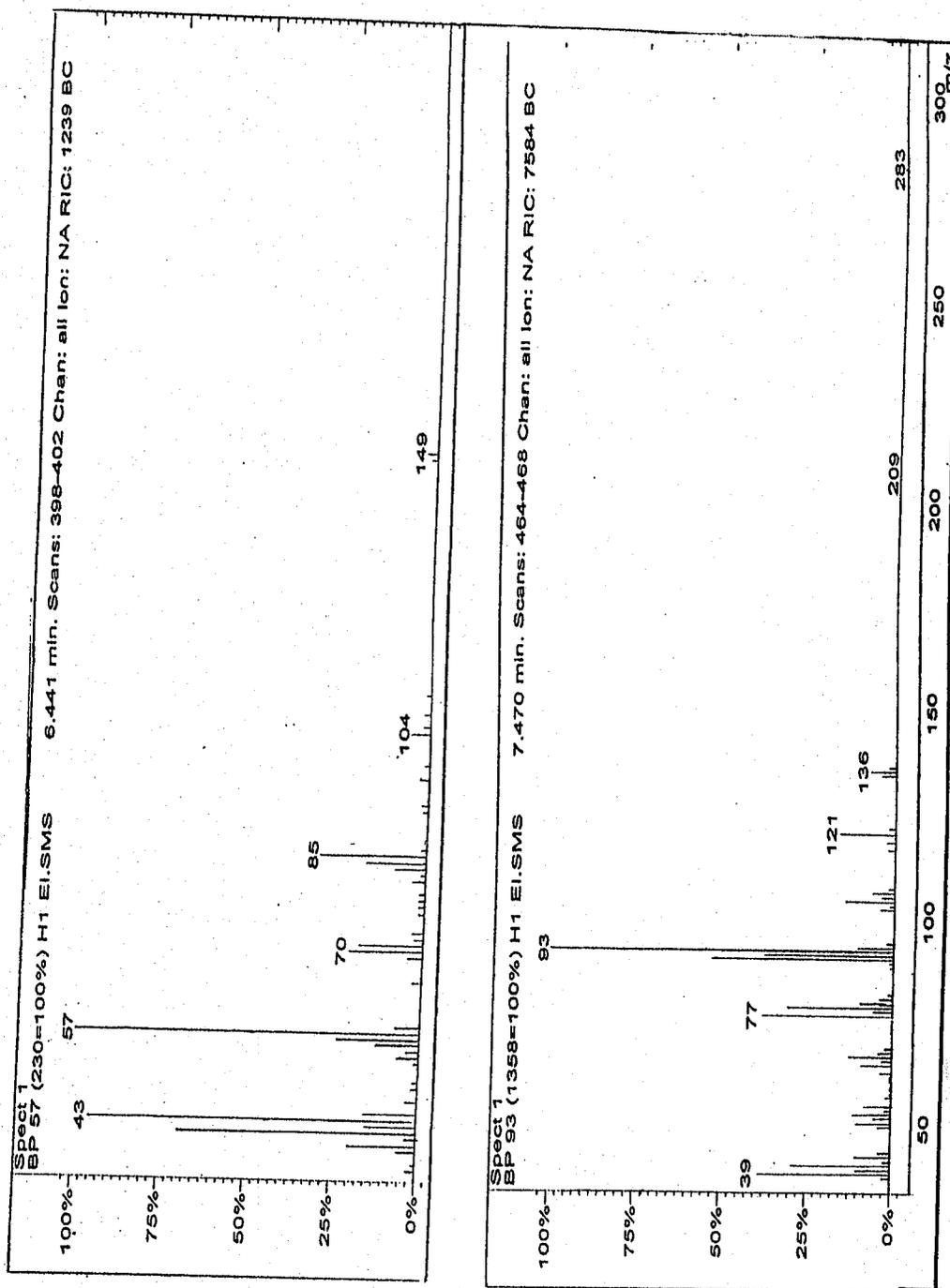


Figure n° 34 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

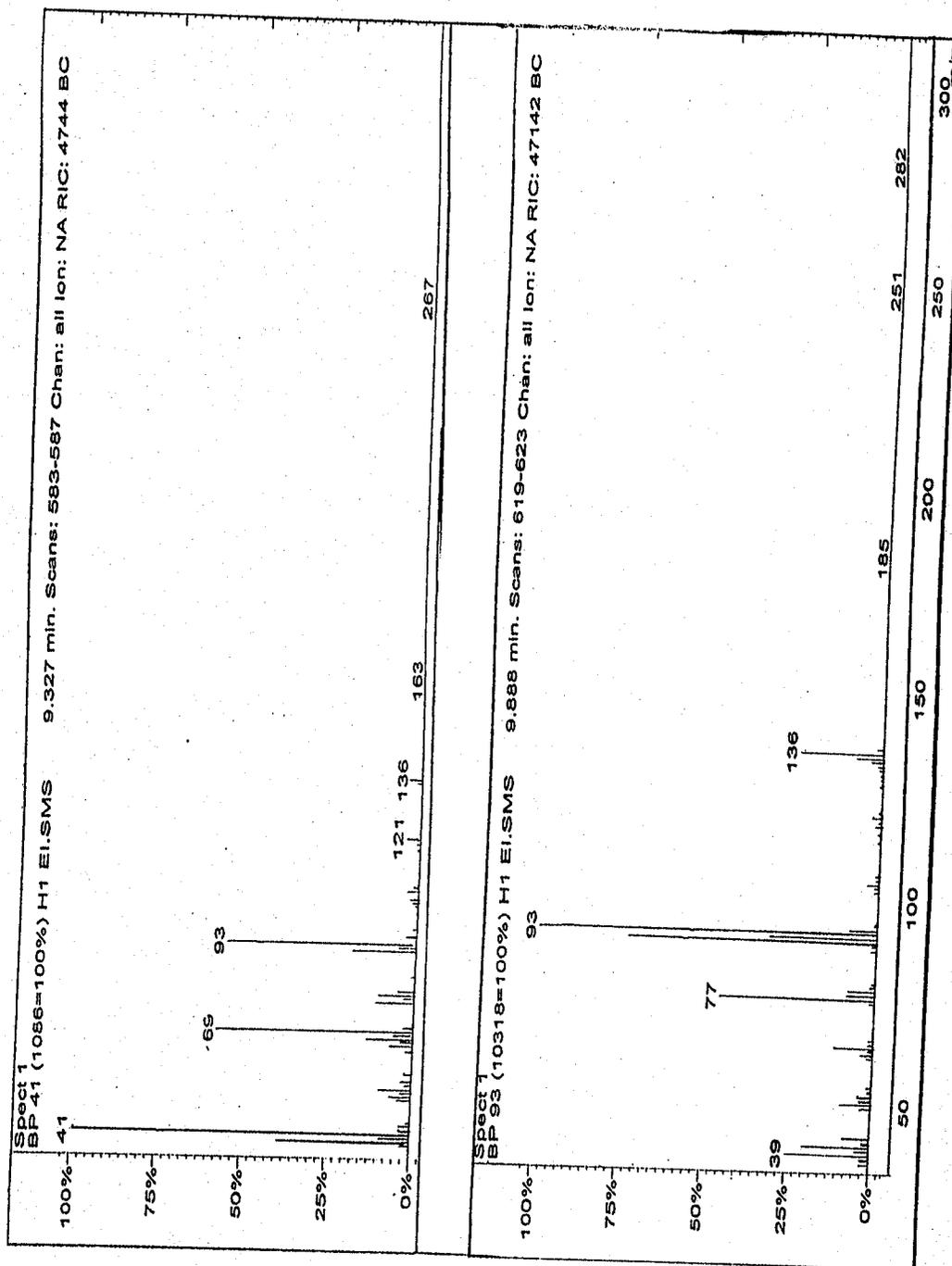


Figure n° 35 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

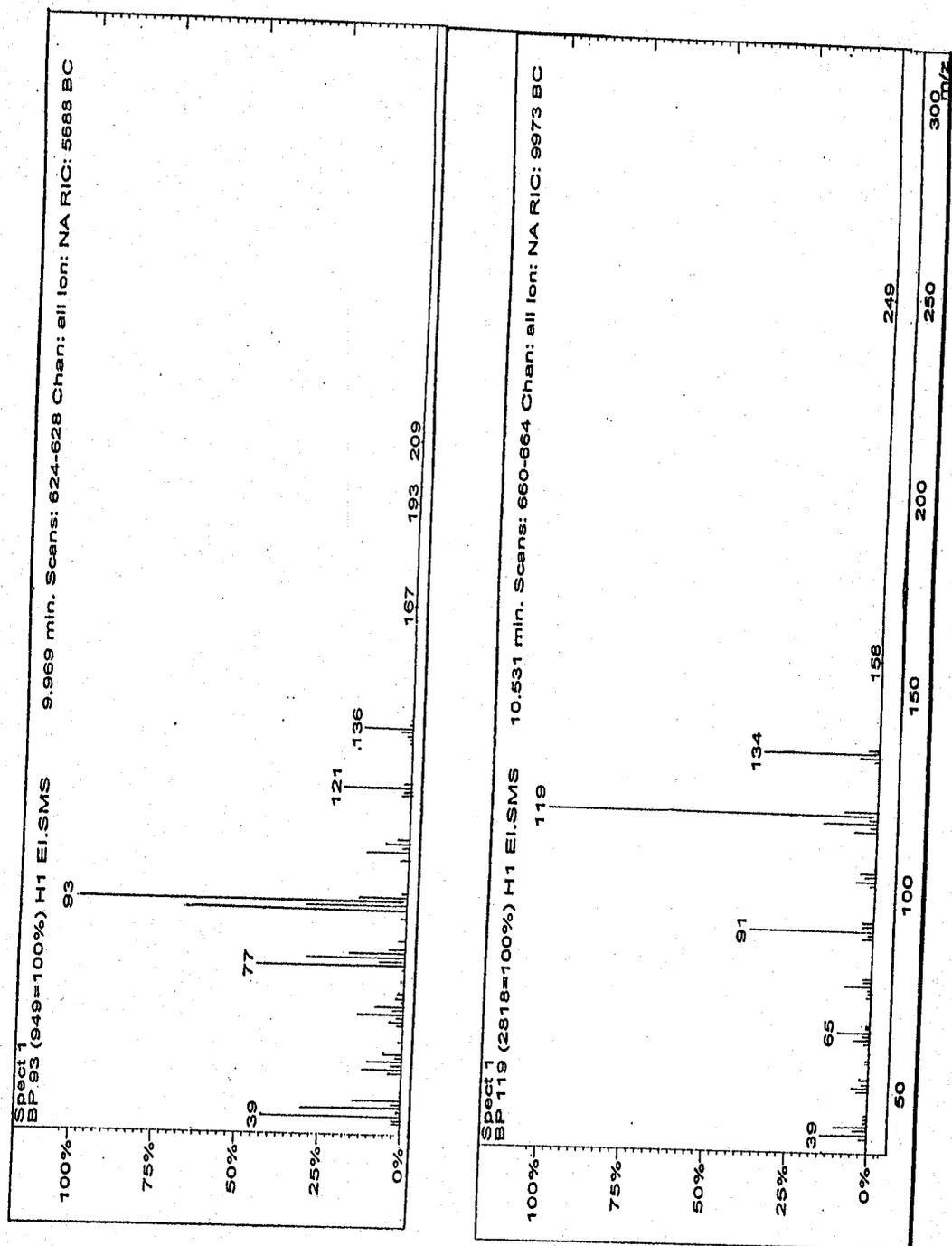


Figure n° 36 : Spectres de masse des composés n° 7 et 8 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

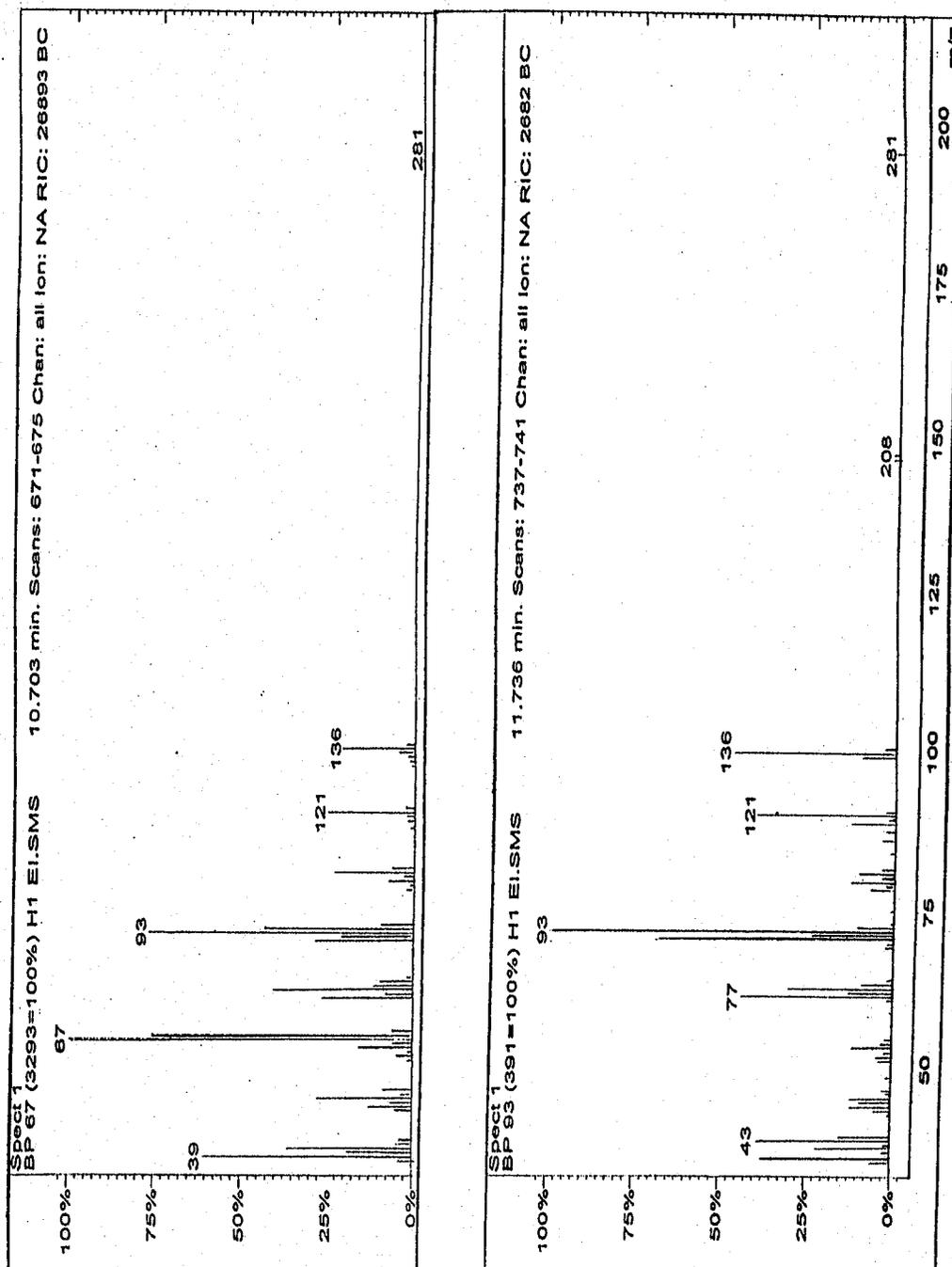


Figure n° 37 : Spectres de masse des composés n° 9 et 10 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

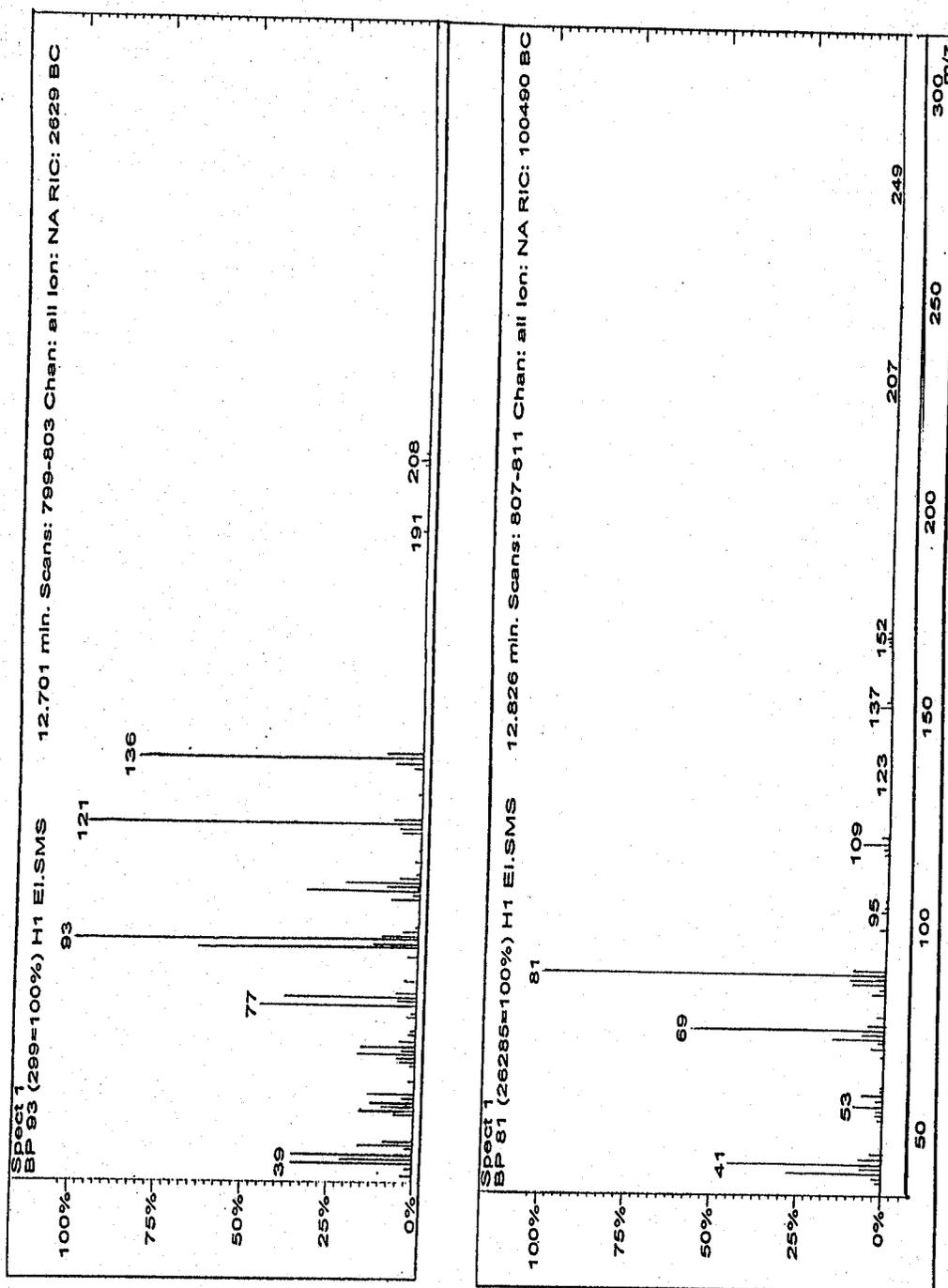


Figure n° 38 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

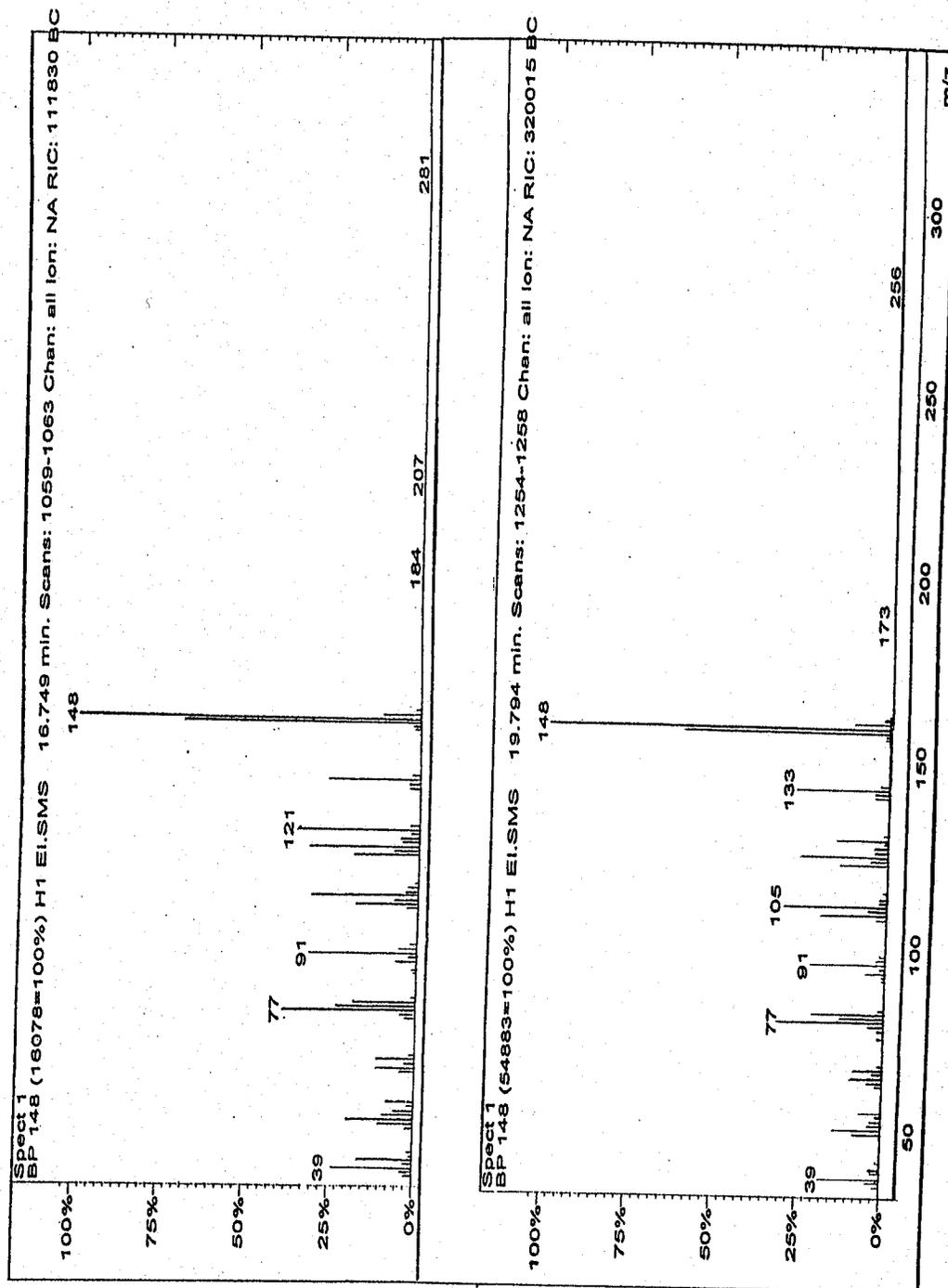


Figure n° 39 : Spectres de masse des composés n° 13 et 14 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 27°C pendant 6 mois

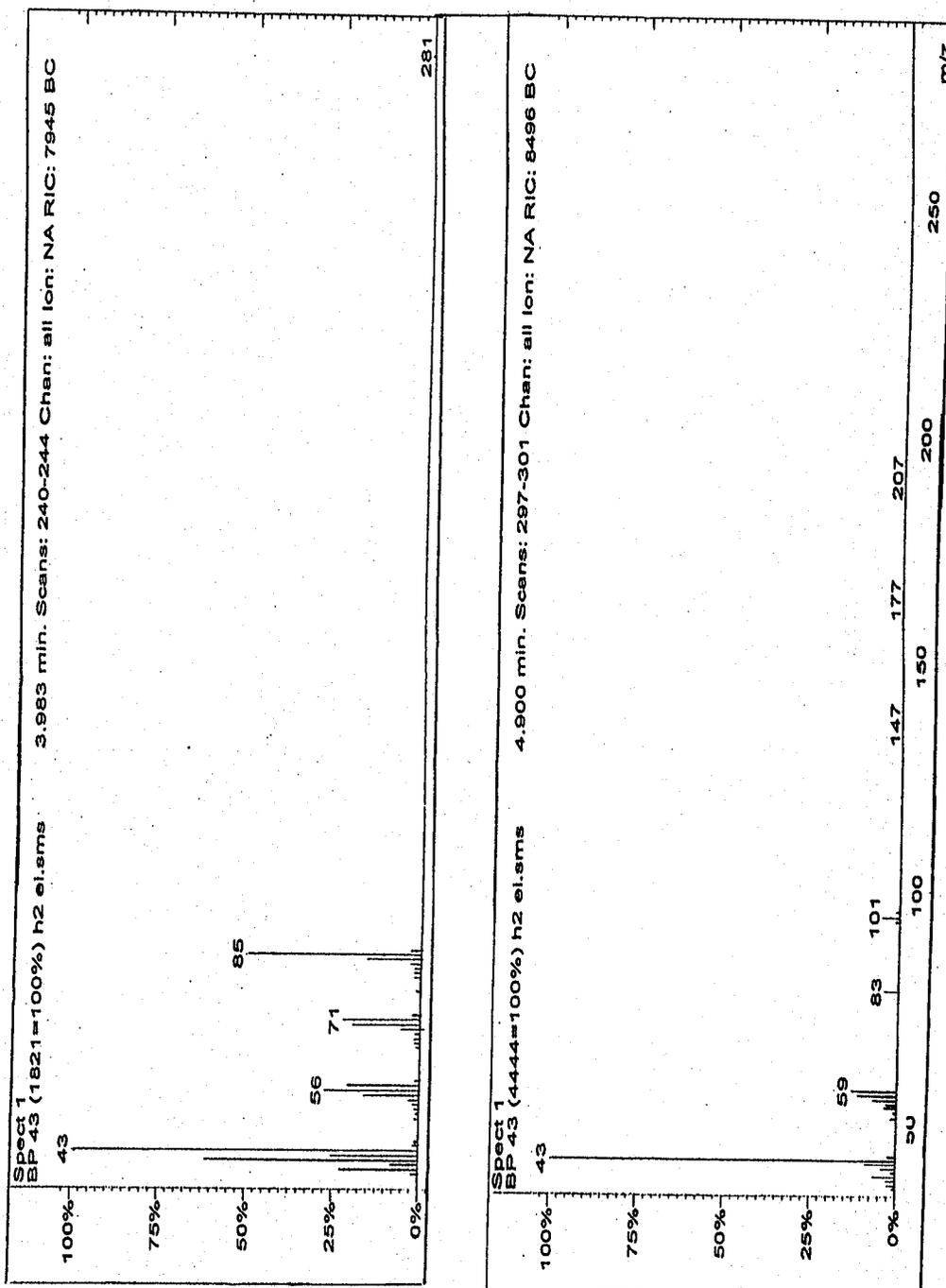


Figure n° 40 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

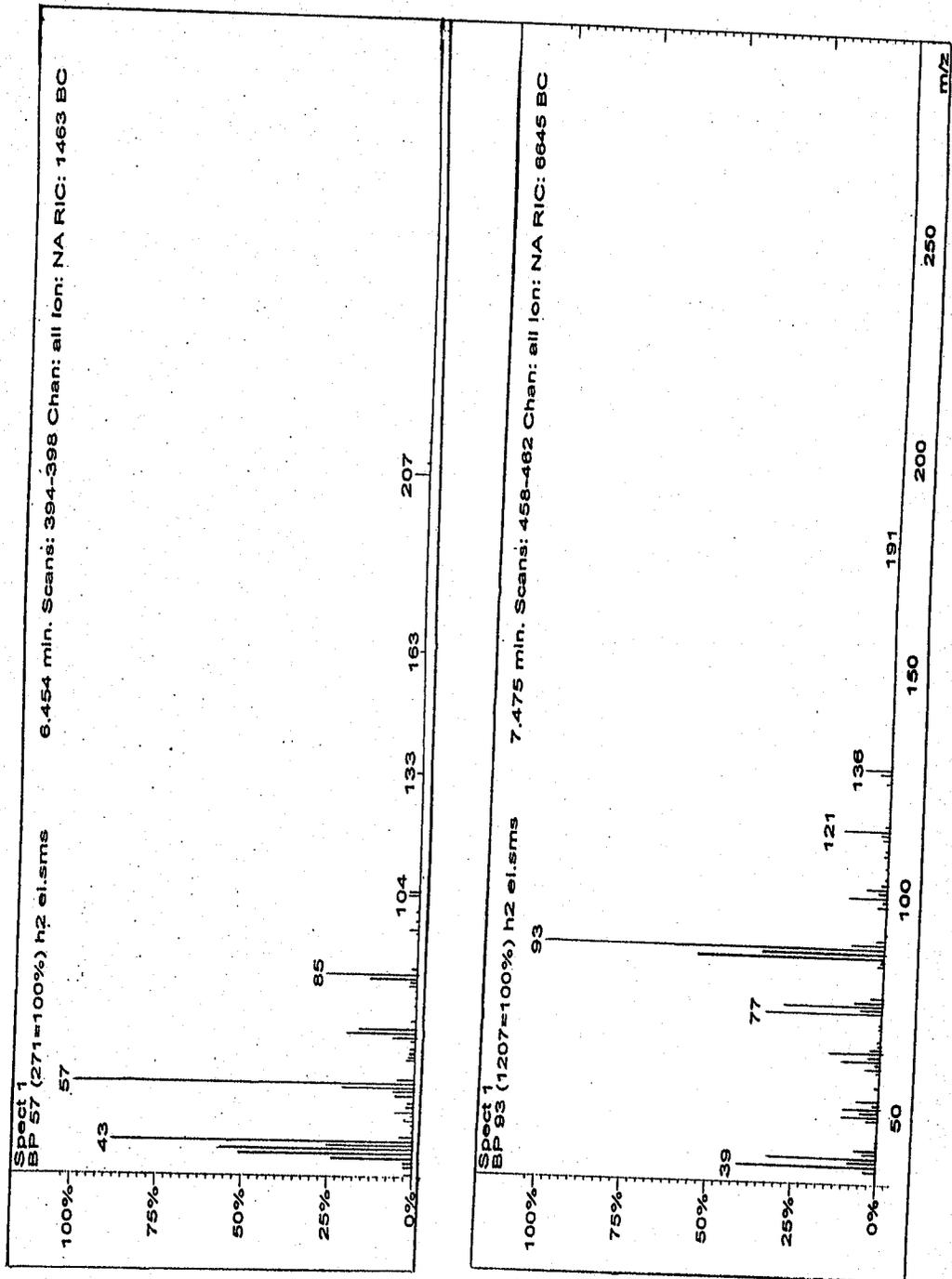


Figure n° 41 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

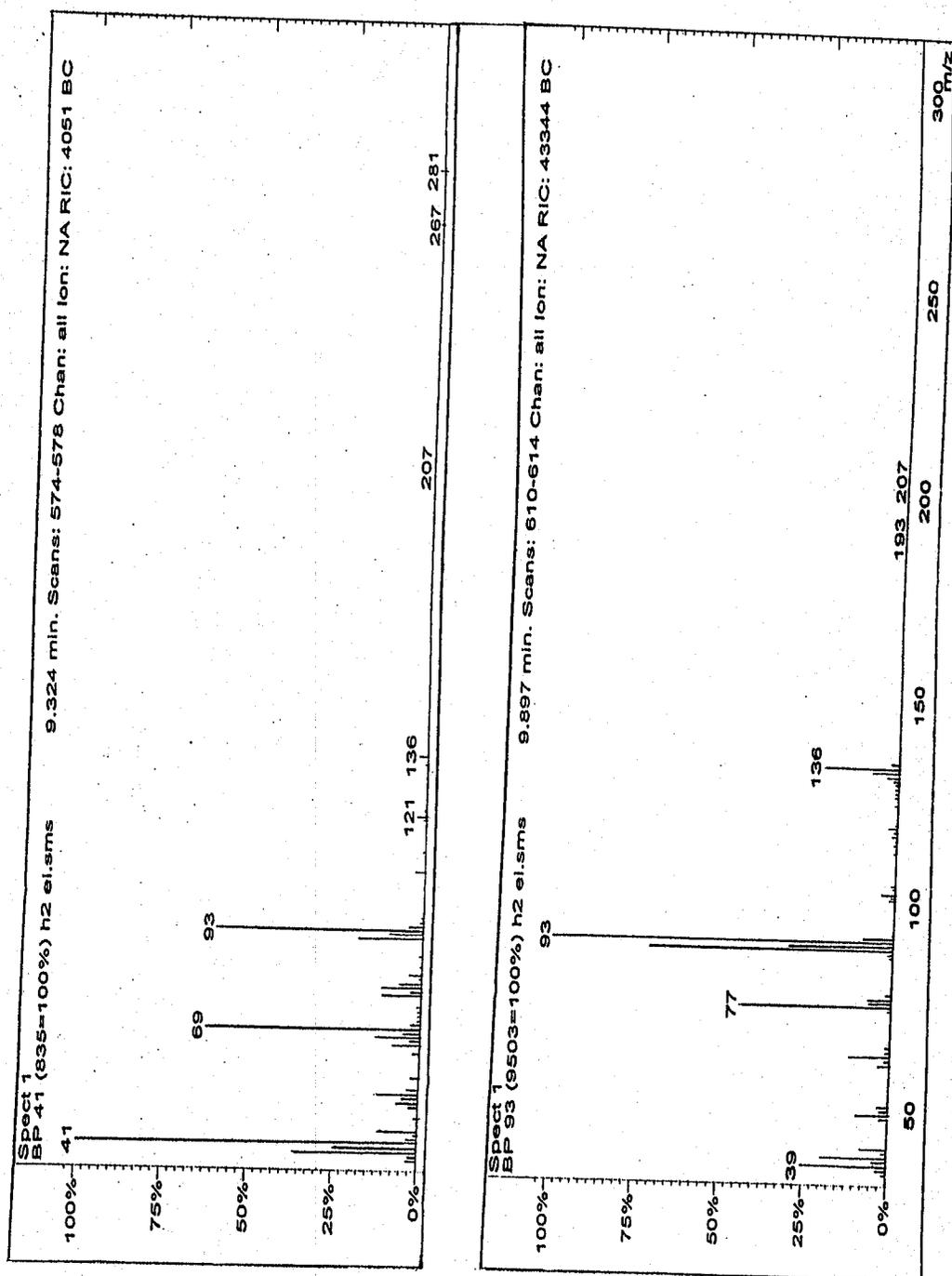


Figure n° 42 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

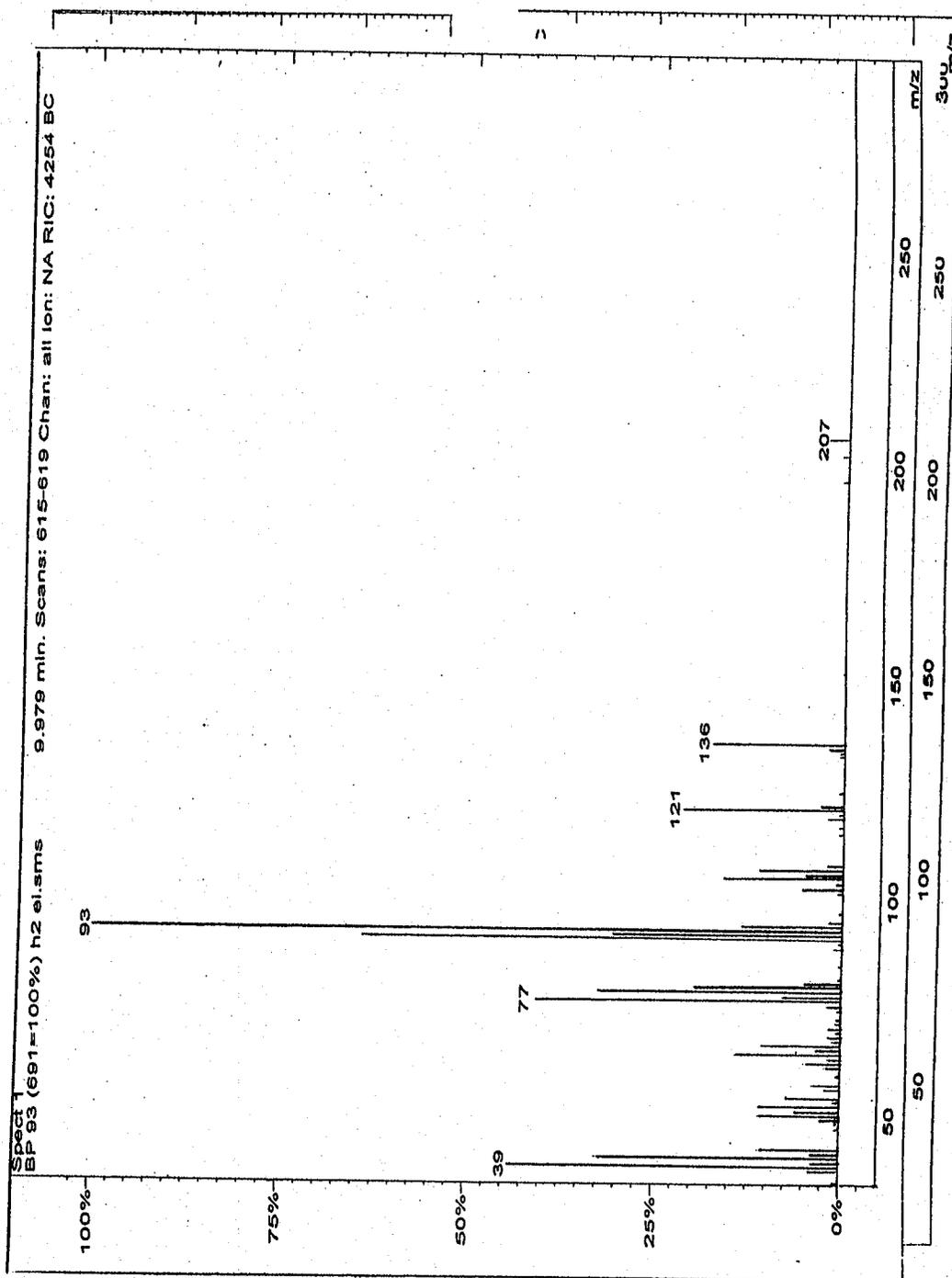


Figure n° 43 : Spectre de masse du composé n° 7 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

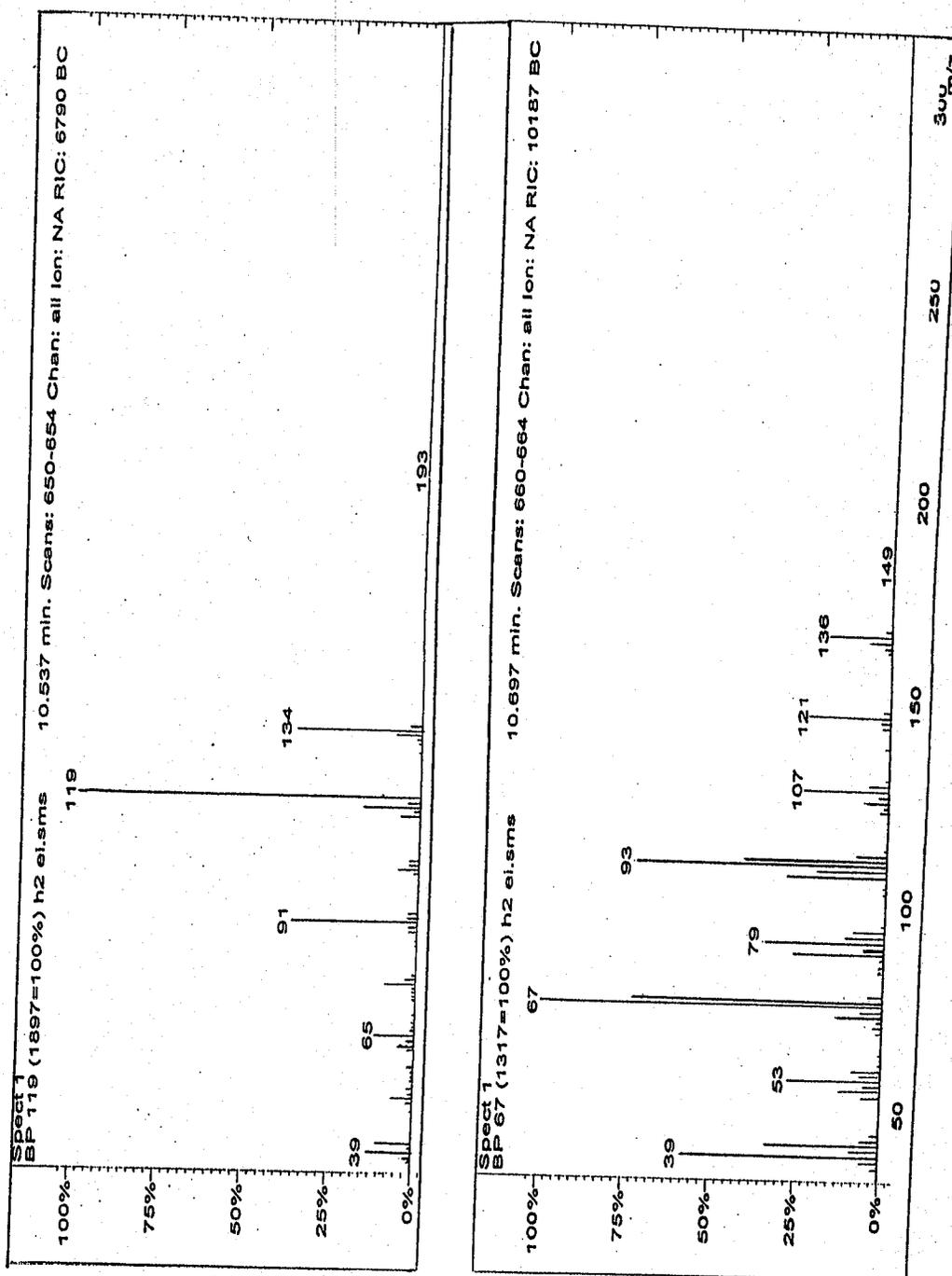


Figure n° 44 : Spectres de masse des composés n° 8 et 9 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

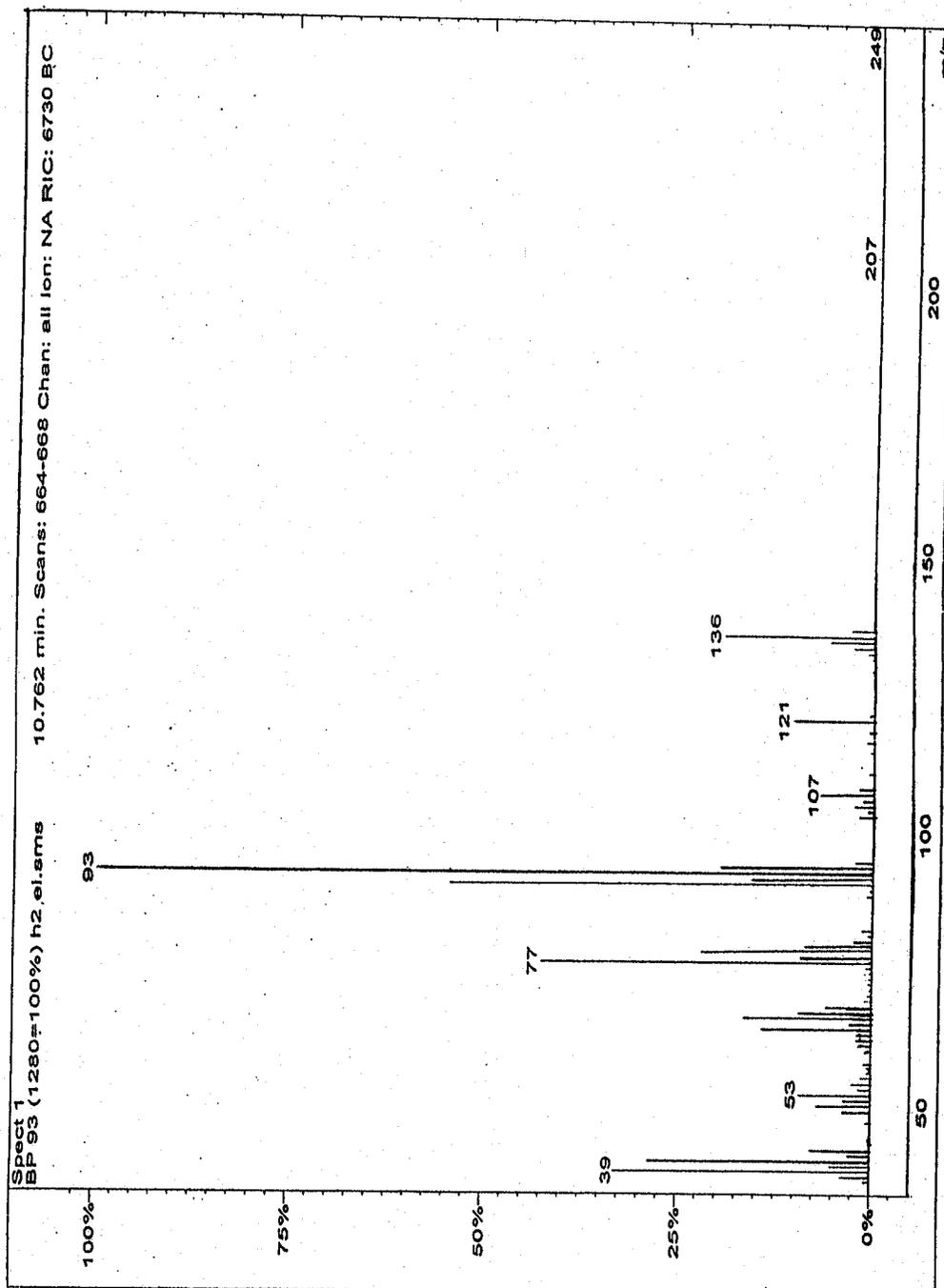


Figure n° 45 : Spectre de masse du composé n° 10 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

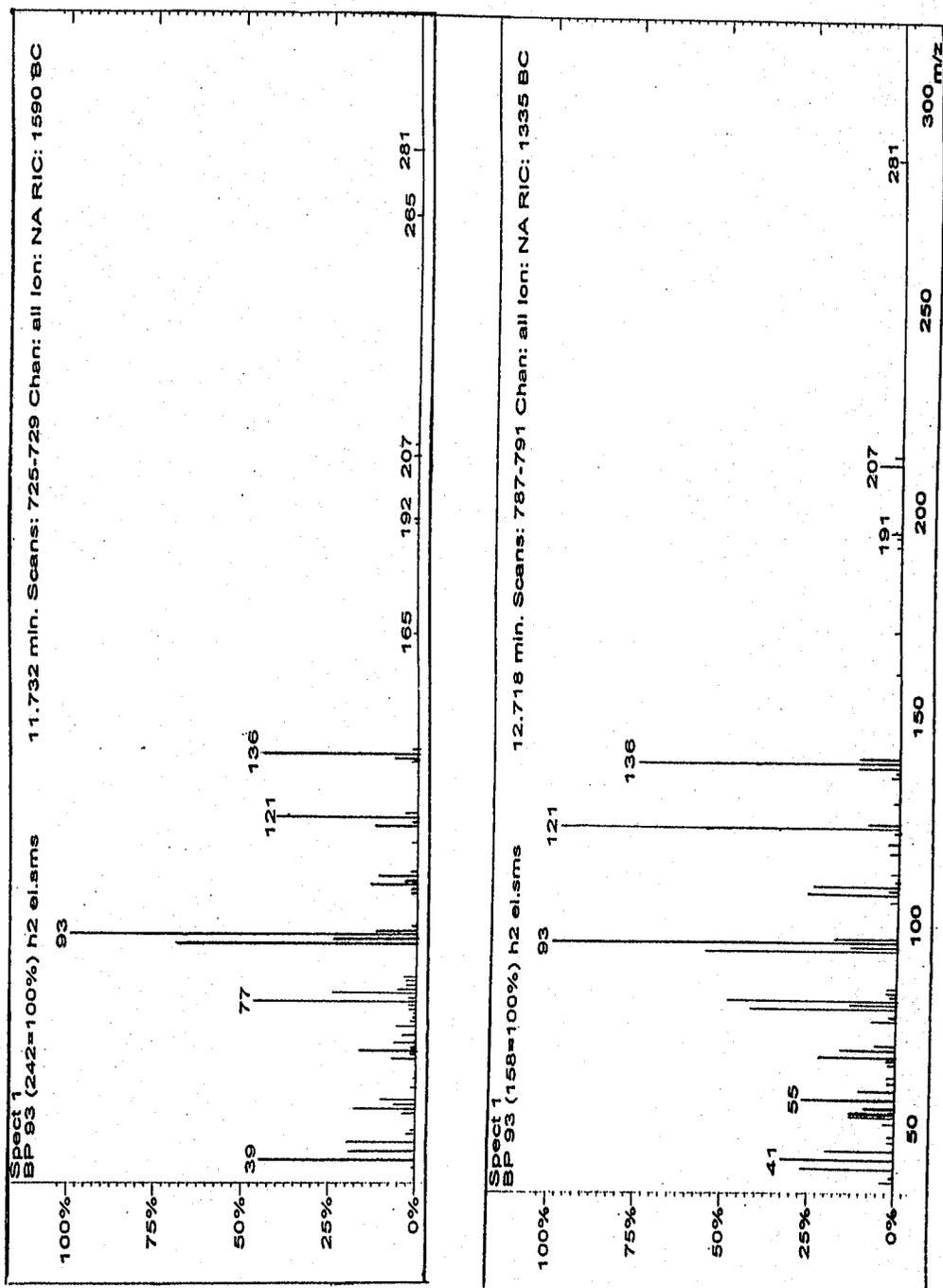


Figure n° 46 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

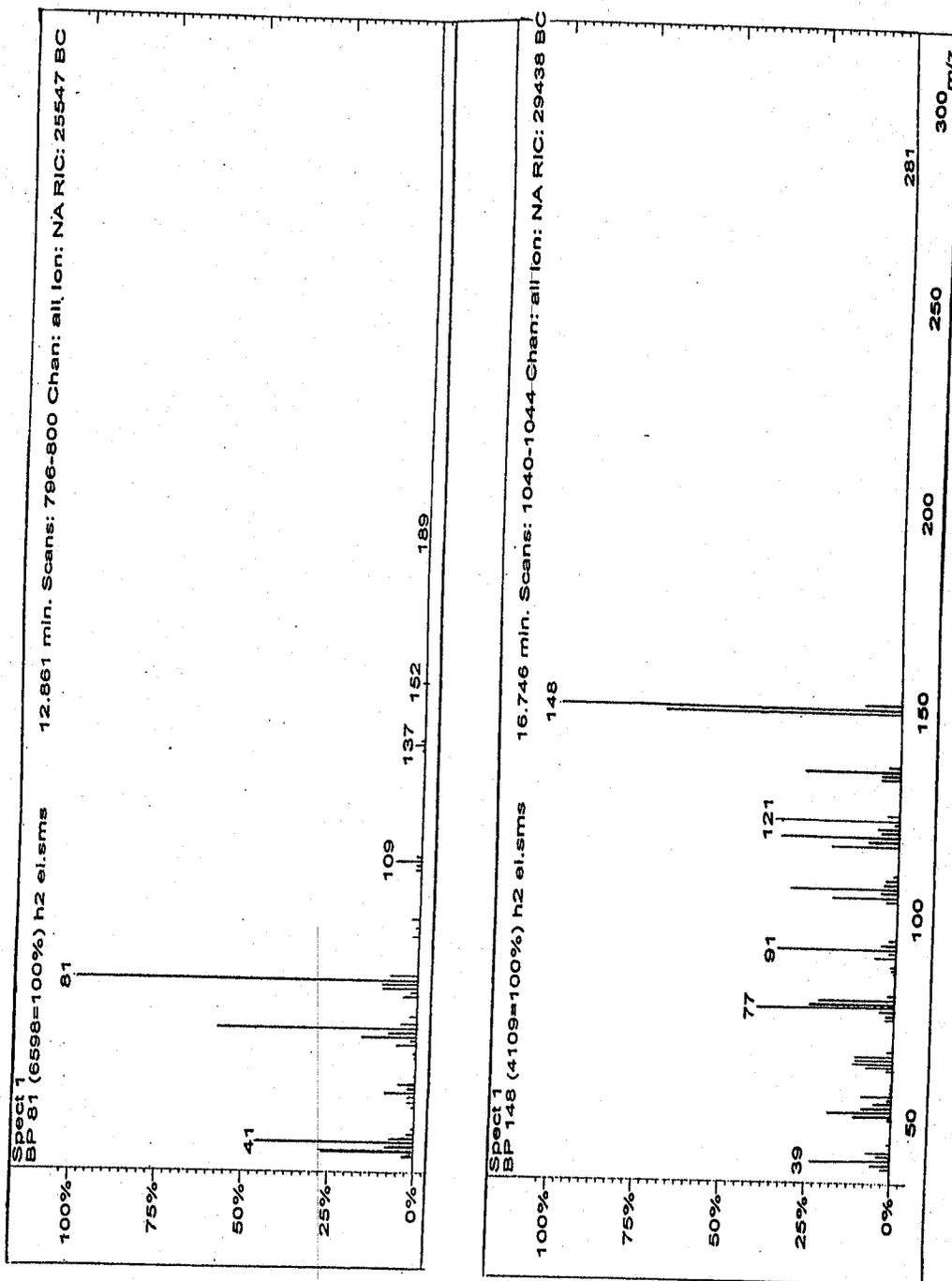


Figure n° 47 : Spectres de masse des composés n° 13 et 14 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

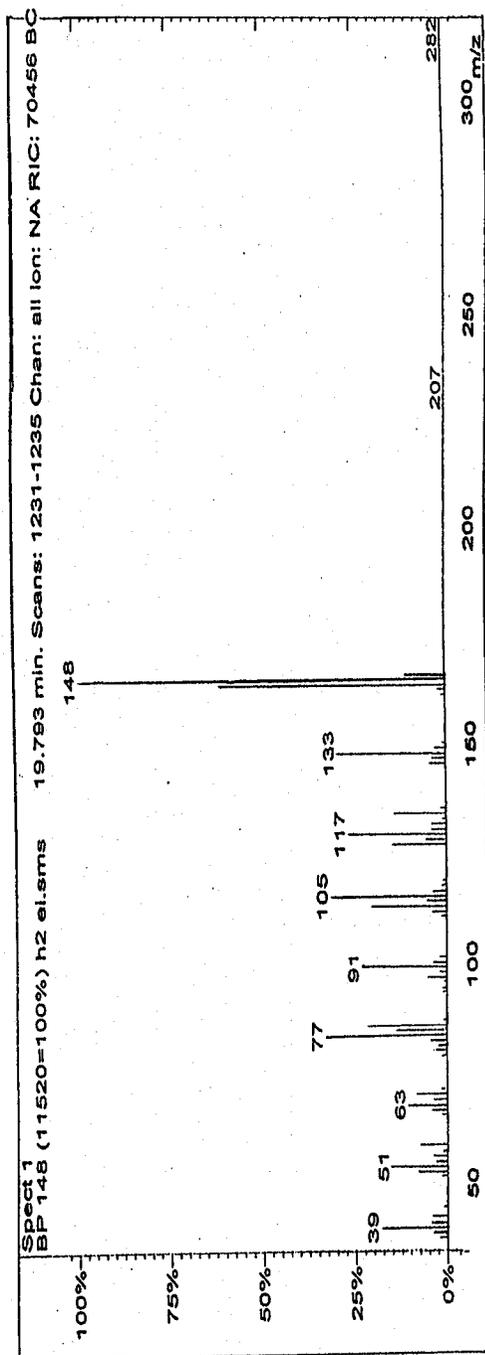


Figure n° 48 : Spectre de masse du composé n° 15 de l'huile essentielle de fenouil de Honaine conservée à 45°C pendant 6 mois

II.2.2 - Huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous

II.2.1.1 - Huile essentielle conservée à T = 4°C

L'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois à l'abri de la lumière et d'air ambiant a permis d'identifier 15 composés chimiques comme pour l'huile essentielle de Honaine maintenue dans les mêmes conditions. Les résultats de cette analyse sont regroupés dans le tableau N° XXXXVII et les pics représentatifs des constituants identifiés sont illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 49.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-------------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptane | 3,971 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 11,04 |
| 2 | 4- hydroxy-4- Me pentan-2-one | 4,871 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 9,44 |
| 3 | 2,4-di Mehexane | 6,437 | C ₈ H ₁₈ | 114 | 2,36 |
| 4 | α- Pinène | 7,463 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 3,01 |
| 5 | β- Myrcène | 9,309 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 6,00 |
| 6 | α -Phellandrène | 9,900 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,57 |
| 7 | Cis-ocimène | 9,966 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 3,86 |
| 8 | P - cymène | 10,530 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 6,86 |
| 9 | Limonène | 10,690 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 15,44 |
| 10 | γ- terpinène | 10,754 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | Trace |
| 11 | Fenchone | 12,831 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 11,28 |
| 12 | Estragole | 16,740 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 1,50 |
| 13 | Verbénone | 18,488 | C ₁₀ H ₁₄ O | 150 | 2,14 |
| 14 | Anisaldéhyde | 18,699 | C ₈ H ₈ O ₂ | 136 | 1,72 |
| 15 | Trans-anéthole | 19,787 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 21,45 |

TABLEAU N° XXXXVII : Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservé à 4°C pendant 6 mois

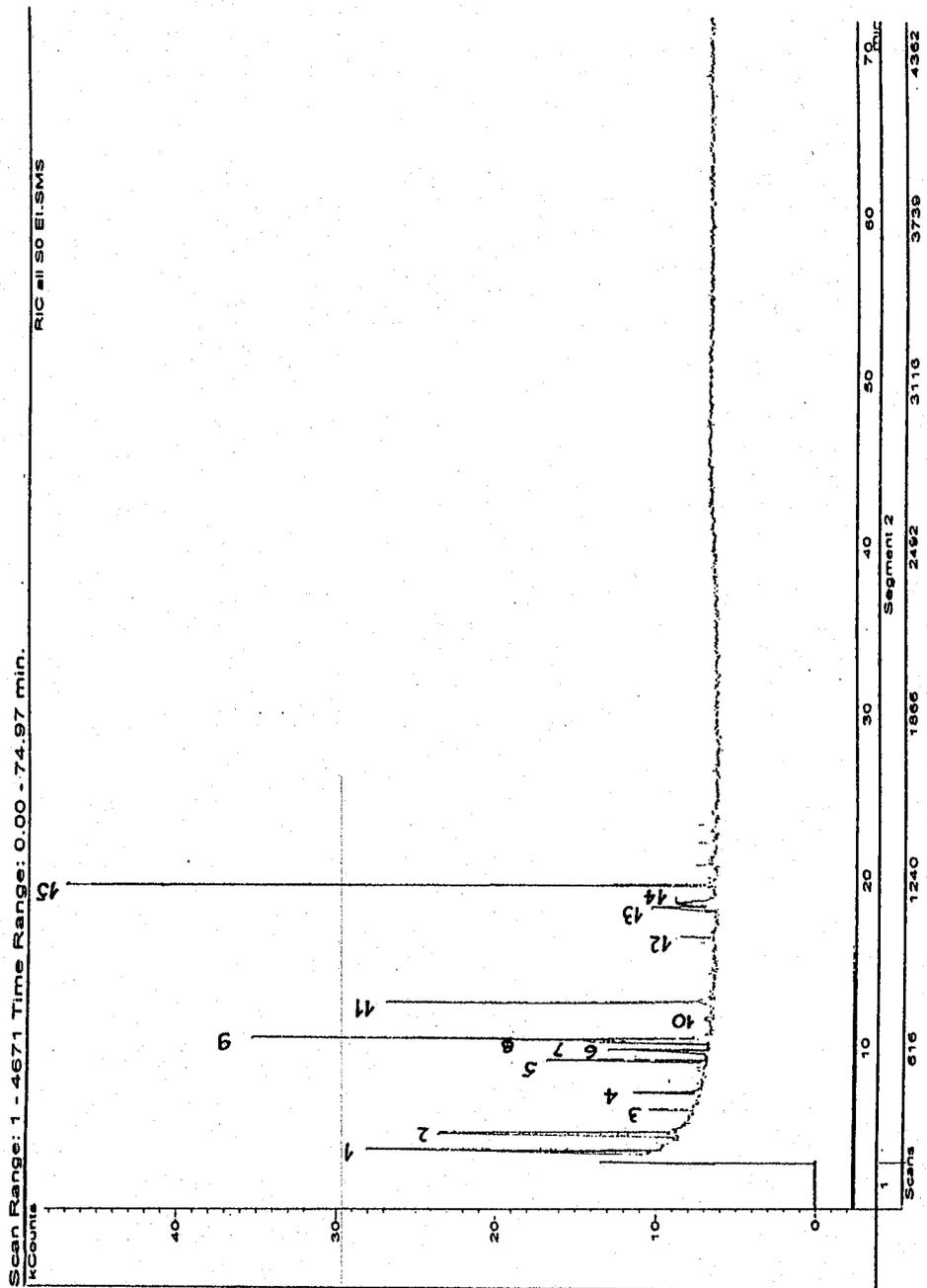


Figure n° 49 : Chromatogramme C.G./S.M de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois

Comme dans le cas de l'huile essentielle de Honaine conservée à 4°C, hormis 8 constituants déjà identifiés par l'analyse par CPG, 7 autres composés sont déterminés à savoir : 2,4 - diméthylheptane ; 4 - hydroxy-4 méthylpentan - 2-one ; 2,4 - diméthylhexane ; - β - myrcène ; cis-ocymène ; estragole et verbénone.

Le tableau N° XXXXVII montre que le composé majoritaire est le trans-anéthole (21,45%) suivi du limonène (15,44%) et de la fenchone (11,28%) et montre également l'absence totale du cis-anéthole cité comme élément toxique.

II.2.2.2. Huile essentielle conservée à 27°C

Après conservation de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous pendant 6 mois et à la température de 27°C à l'abri de lumière et d'air ambiant, l'analyse par CG/SM a fourni les résultats suivants regroupés dans le tableau N° XXXXVIII ainsi que les pics des composés identifiés au nombre de 14 et illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 50.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-----------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptané | 3,980 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 7,41 |
| 2 | 4- hydroxy-4-Mepentan-2-one | 4,890 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 2,12 |
| 3 | 2,4-diMe hexane | 6,443 | C ₈ H ₁₈ | 114 | 1,59 |
| 4 | α -Pinène | 7,468 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,06 |
| 5 | β Myrcène | 9,321 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,64 |
| 6 | α -Phellandrène | 9,882 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 15,87 |
| 8 | p - cymène | 10,536 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 6,98 |
| 9 | Limonène | 10,699 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 52,90 |
| (a) | γ - terpinène | 11,737 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,06 |
| (b) | α - terpinolène | 12,708 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 1,06 |
| 11 | Fenchone | 12,864 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 2,12 |
| 12 | Estragole | 16,761 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 2,12 |
| 15 | Trans-anéthole | 19,802 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 2,64 |
| (c) | ? | 22,257 | ? | ? | 2,12 |

TABLEAU N° XXXXVIII : Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois

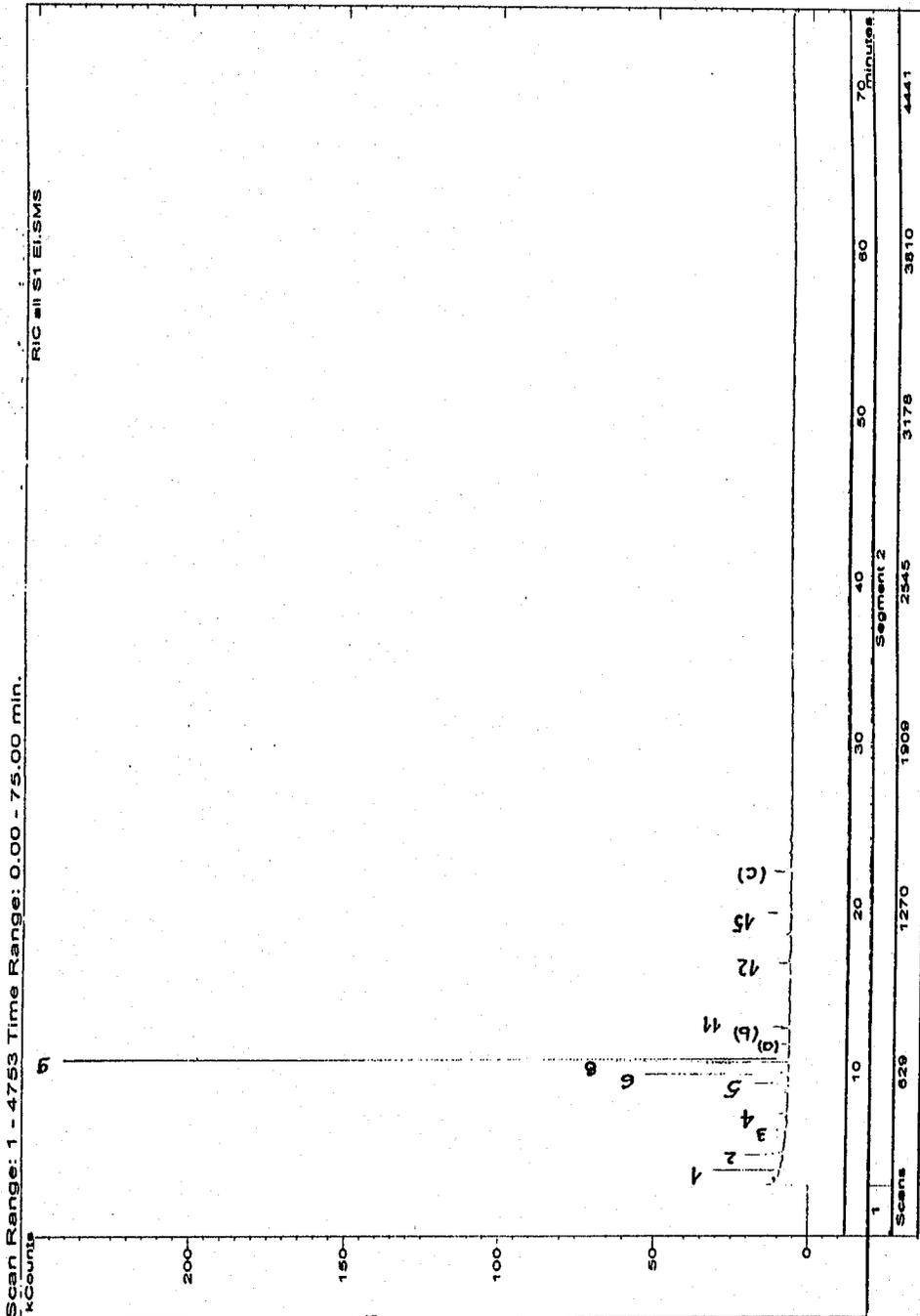


Figure n° 50 : Chromatogramme C.G./S.M de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois

L'analyse par CG/SM de l'échantillon de l'huile essentielle de Béni-Ouarsous conservé à 27°C pendant 6 mois a révélé 14 échantillons dont un non identifié. Nous constatons l'absence du cis-ocimène comparativement à l'échantillon de Honaine maintenu dans les mêmes conditions. Le limonène est le composé majoritaire (52,90%) suivi du α -phellandrène (15,87%) (Tableau N° XXXXVIII).

II.2.2.2. Huile essentielle conservée à 27°C

Dans le tableau N° XXXXIX sont consignés les résultats issus de l'analyse par CG/SM et relatifs à l'huile essentielle de Béni-Ouarsous conservée pendant 6 mois à l'abri d'air ambiant et de lumière à la température de 45°C.

Cette analyse a révélé 15 constituants dont les pics représentatifs sont illustrés dans le chromatogramme de la figure n° 51.

| N° pic | Composés | Temps de rétention tr(min) | Formule brute | Masse molaire (gr/mole) | (%) |
|--------|-----------------------------|----------------------------|---|-------------------------|-------|
| 1 | 2,4 diMe heptane | 3,971 | C ₉ H ₂₀ | 128 | 6,05 |
| 2 | 4-hydroxy-4-Me pentan-2-one | 4,890 | C ₆ H ₁₂ O ₂ | 116 | 3,63 |
| 3 | 2,4-di Me hexane | 6,443 | C ₈ H ₁₈ | 114 | 0,67 |
| 4 | α Pinène | 7,468 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0,67 |
| 5 | β Myrcène | 9,321 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 2,42 |
| 6 | α - phellandrène | 9,882 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 12,11 |
| 7 | Cis-ocimène | 9,976 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | Trace |
| 8 | P - cymène | 10,536 | C ₁₀ H ₁₄ | 134 | 5,29 |
| 9 | Limonène | 10,709 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 60,55 |
| (a) | Γ - terpinène | 11,740 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0,61 |
| (b) | α - terpinolène | 12,705 | C ₁₀ H ₁₆ | 136 | 0,61 |
| 11 | Fenchone | 12,844 | C ₁₀ H ₁₆ O | 152 | 1,21 |
| 12 | Estragole | 16,757 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 0,61 |
| 15 | Trans-anéthole | 19,799 | C ₁₀ H ₁₂ O | 148 | 2,42 |
| (c) | ? | 22,276 | ? | ? | 1,21 |

TABLEAU N° XXXXIX : Résultats de l'analyse par CG/SM de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois

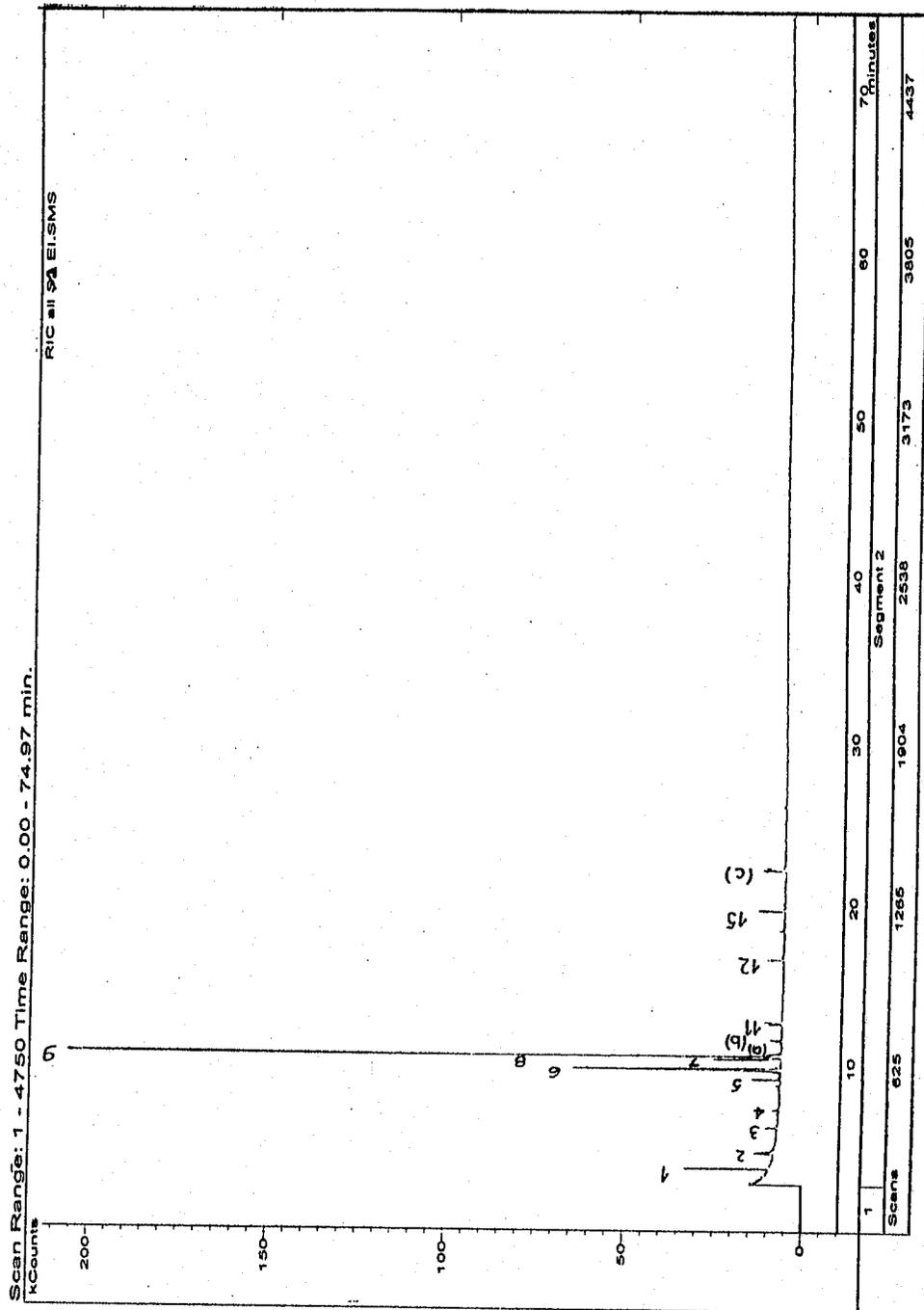


Figure n° 51 : Chromatogramme C.G./S.M de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois

La composition qualitative obtenue est identique à celle de l'essence du fenouil de Honaine conservée dans les mêmes conditions à un élément près (non identifié) et dont le temps de rétention est égal à 22,276 minutes.

Le composé majoritaire est le limonène avec une teneur dépassant 60% suivi de l' α - phellandrène (12,11%) (tableau N° XXXXIX).

| Constituants | Huile essentielle fraîchement extraite | Huile essentielle conservée à 4°C | Huile essentielle conservée à 27°C | Huile essentielle conservée à 45°C |
|-------------------------|--|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| α - pinène | 3,32 | 3,01 | 1,06 | 0,67 |
| α - phellandrène | 4,71 | 2,57 | 15,87 | 12,11 |
| p - cymène | 9,45 | 6,86 | 7,27 | 5,29 |
| Limonène | 23,52 | 15,44 | 52,90 | 60,55 |
| γ - terpinène | 0,14 | 0,29 | Trace | 0,12% |
| Fenchone | 10,20 | 11,31 | 2,12 | 1,21 |
| Estragole | 2,22 | 2,12 | 1,50 | 0,61 |
| Verbénone | 1,55 | 1,80 | - | - |
| Anisaldéhyde | 0,22 | 1,02 | - | - |
| (E) - anéthole | 22,37 | 21,45 | 2,64 | 2,42 |

TABLEAU N° XXXXX : Tableau montrant le changement des teneurs de constituants issus des huiles essentielles de fenouil de Béni-Ouarsous

Le tableau ci-dessus fait apparaître la variation des proportions de certains composés issus des huiles essentielles du fenouil de Béni-Ouarsous fraîchement extraite et conservées respectivement à 4°C, 27°C et 45°C pendant 6 mois

Ces résultats montrent des changements relativement importants voire très significatifs des teneurs de ces constituants.

En effet, nous remarquons que l'augmentation de la température fait diminuer les taux de l' α -pinène (3,32% - 0,67%), du p- cymène (9,45% - 5,29%), de la fenchone

(10,20% - 1,21%), de l'estragole (2,22% - 0,61%), de la verbénone (1,55% - trace), de l'ansaldéhyde (0,22% - trace) et du (E) - anéthole (22,37% - 2,42%).

Toutefois, il est à signaler que les teneurs de la fenchone, de la verbénone et de l'ansaldéhyde passent d'abord par un pic à la même température (4°C) pour ensuite diminuer.

Aussi, le limonène (composé majoritaire) voit sa proportion presque tripler (23,52% - 60,55%) et se comporte donc comme le trans-anéthole dans l'huile essentielle de Honaine. Le γ - terpinène reste relativement stable (0,14% - 0,12%).

Il est à noter le même comportement de l' α - phellandrène dans les échantillons des deux huiles essentielles (de Honaine et de Béni-Ouarsous).

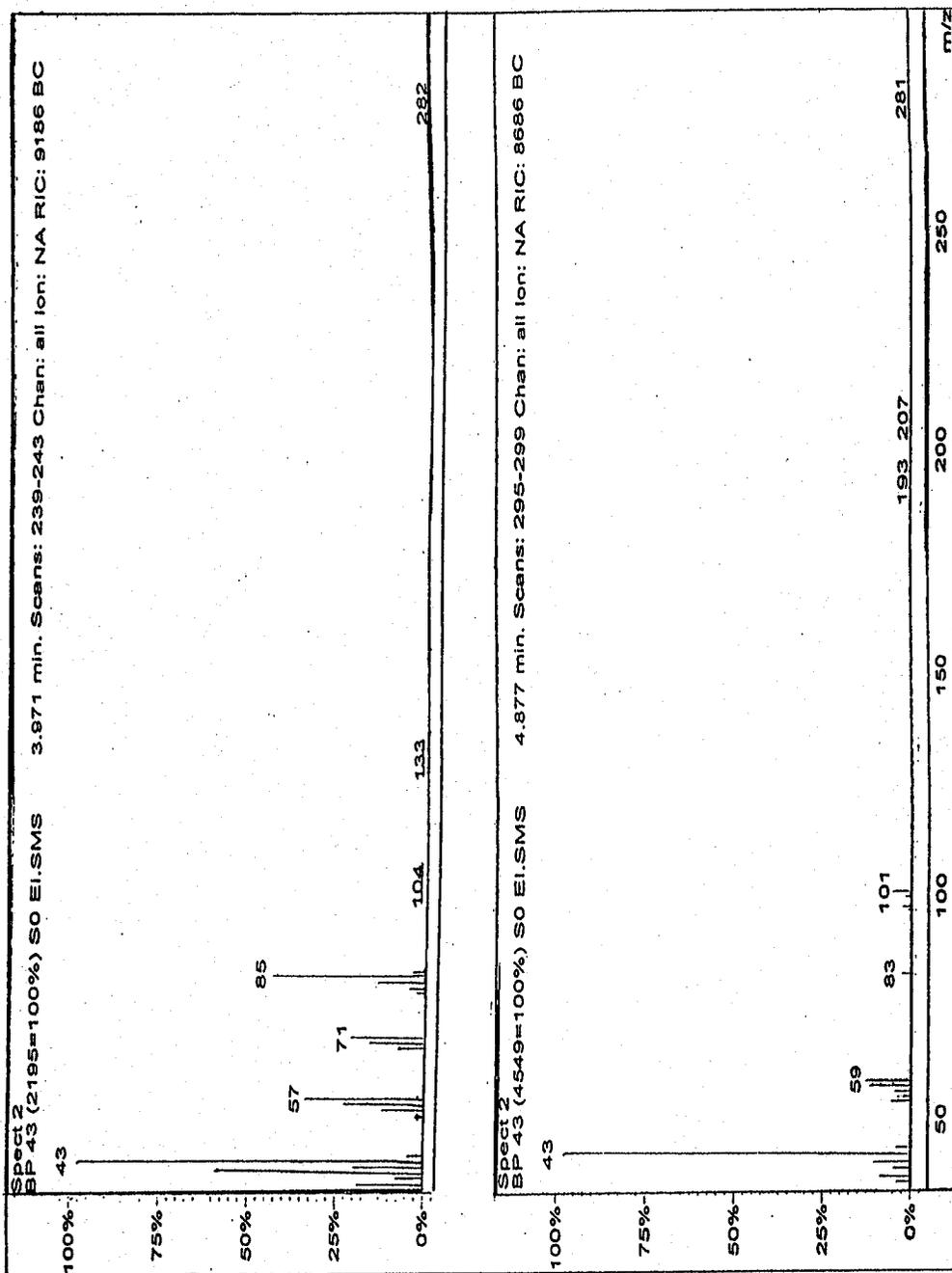


Figure n° 52 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois

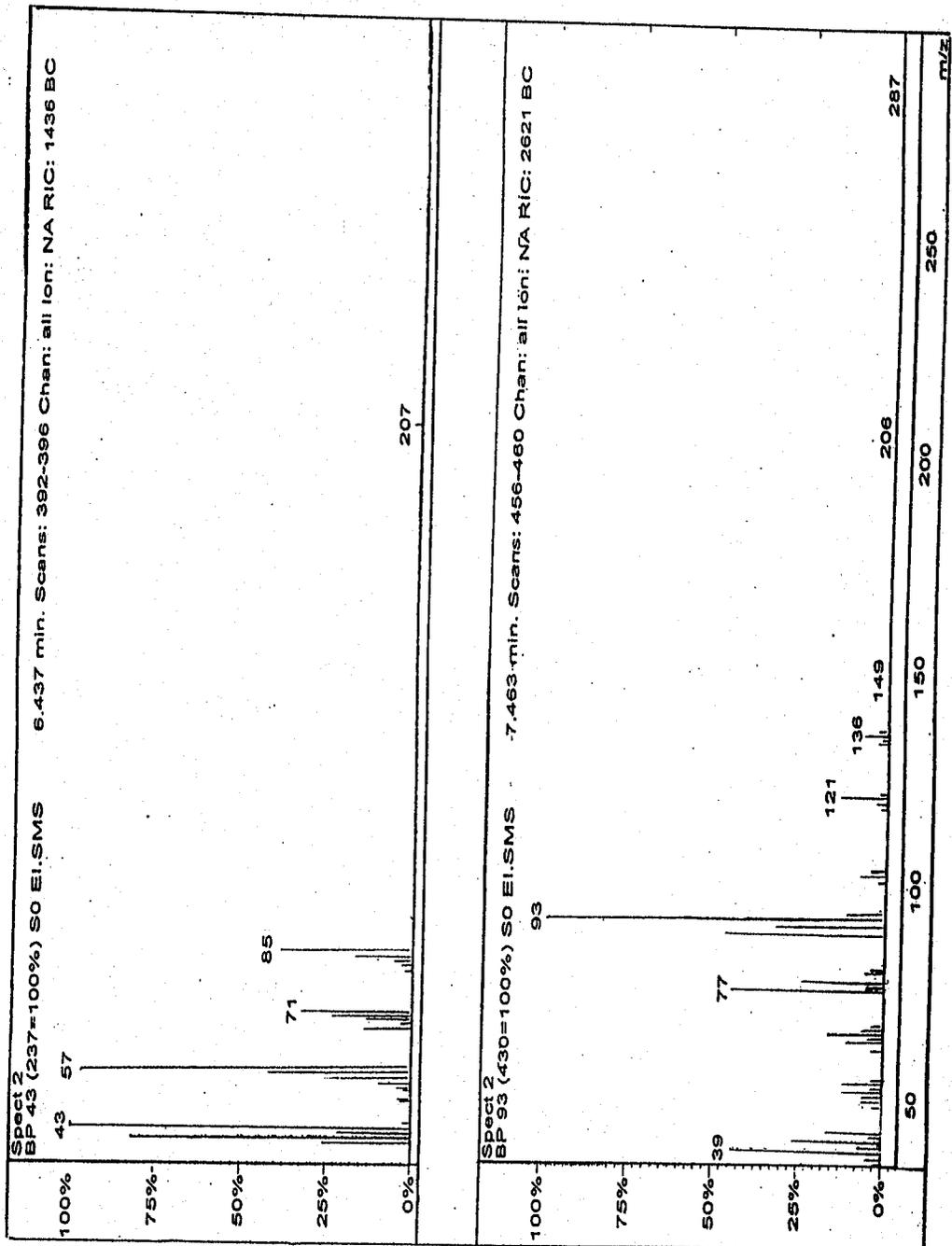


Figure n° 53 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois

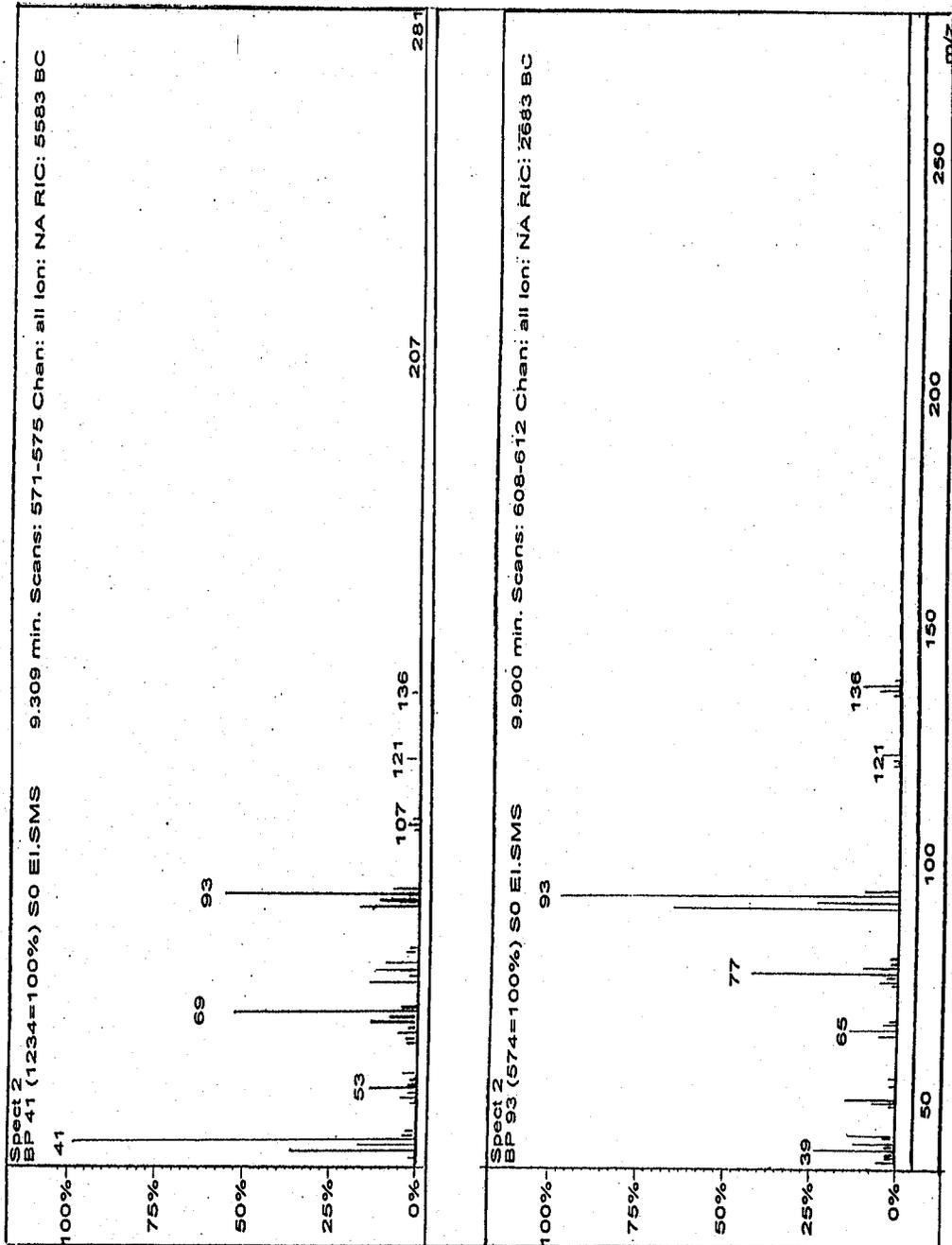


Figure n° 54 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois

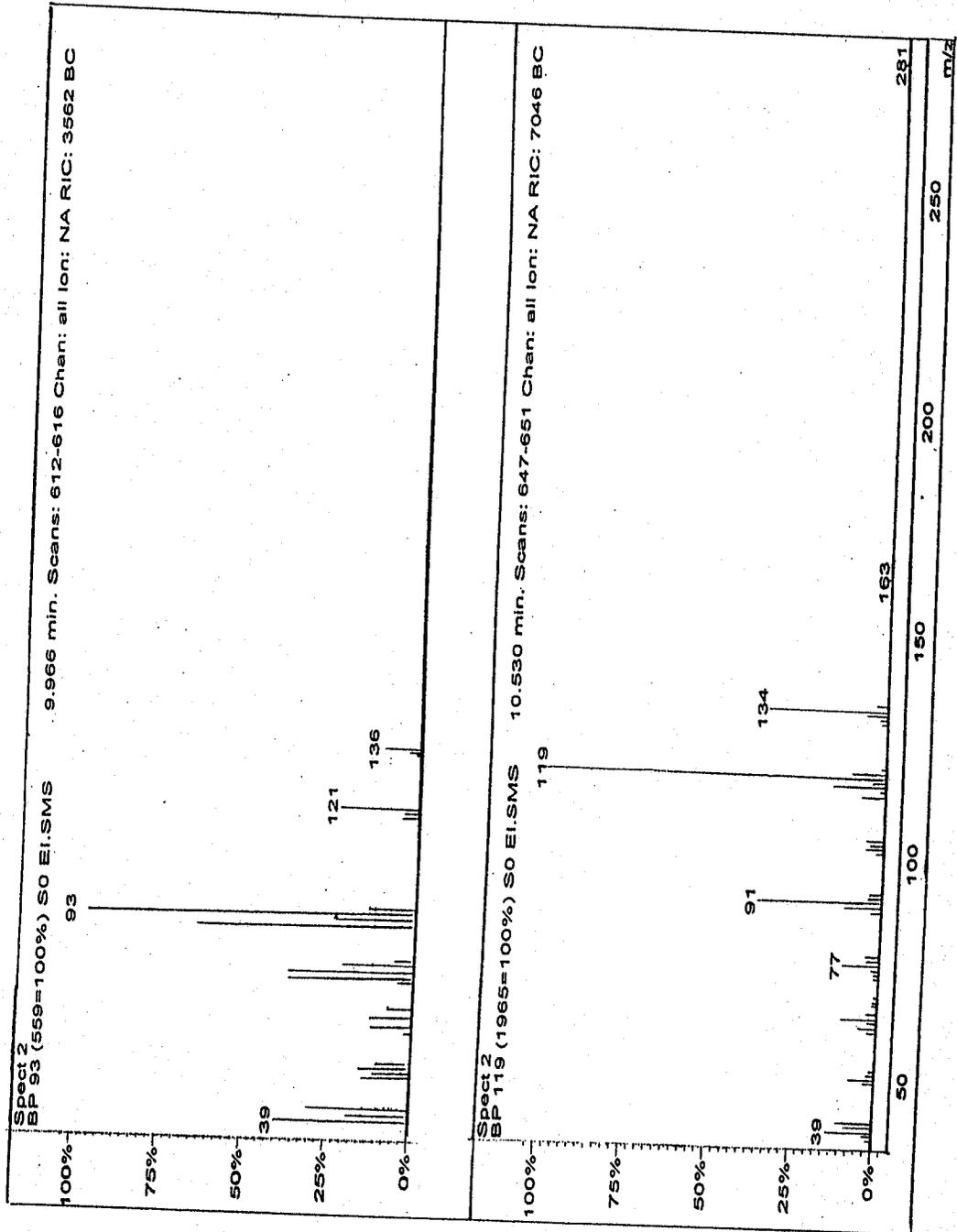


Figure n° 55 : Spectres de masse des composés n° 7 et 8 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois.

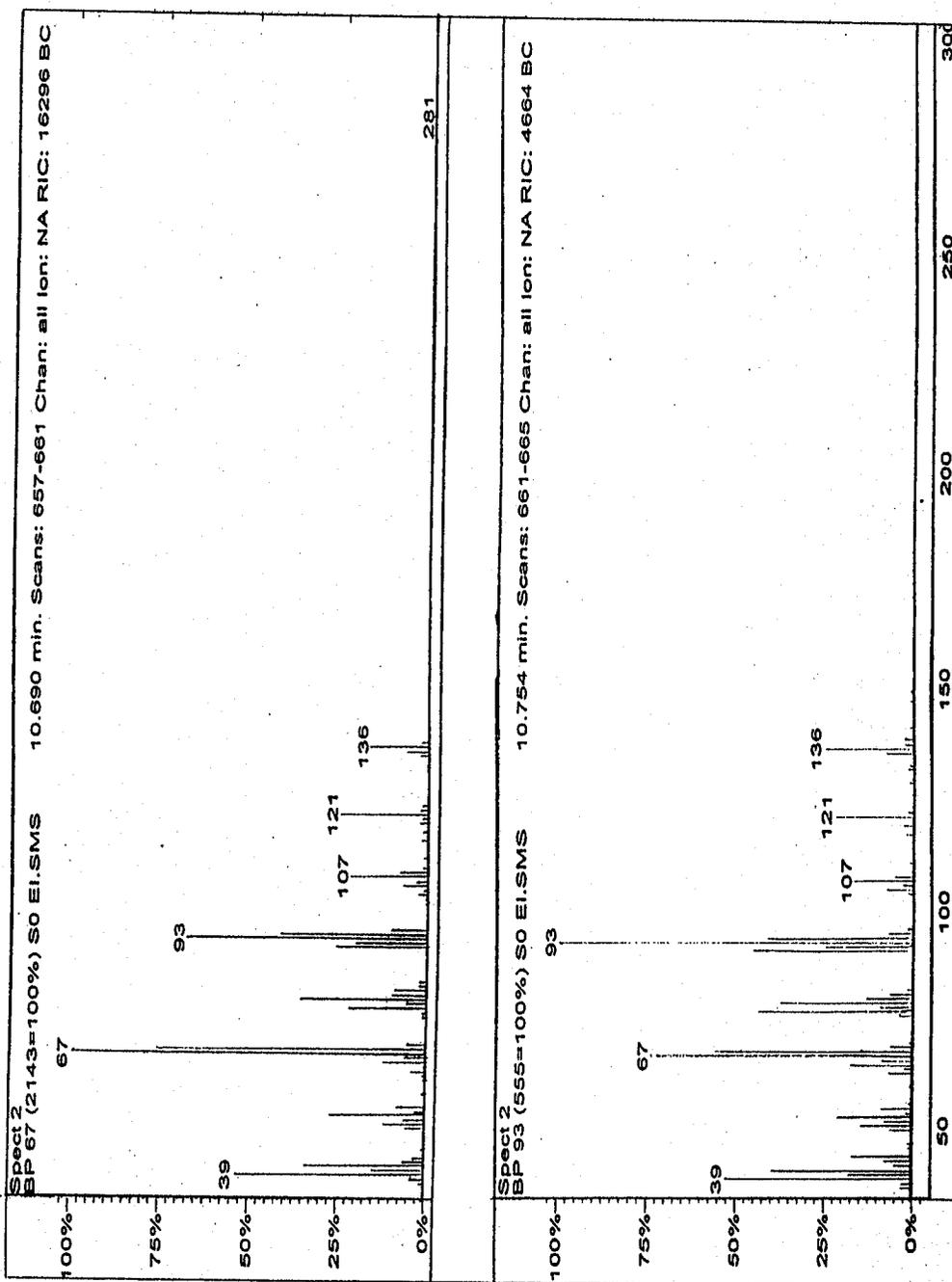


Figure n° 56 : Spectres de masse des composés n° 9 et 10 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois.

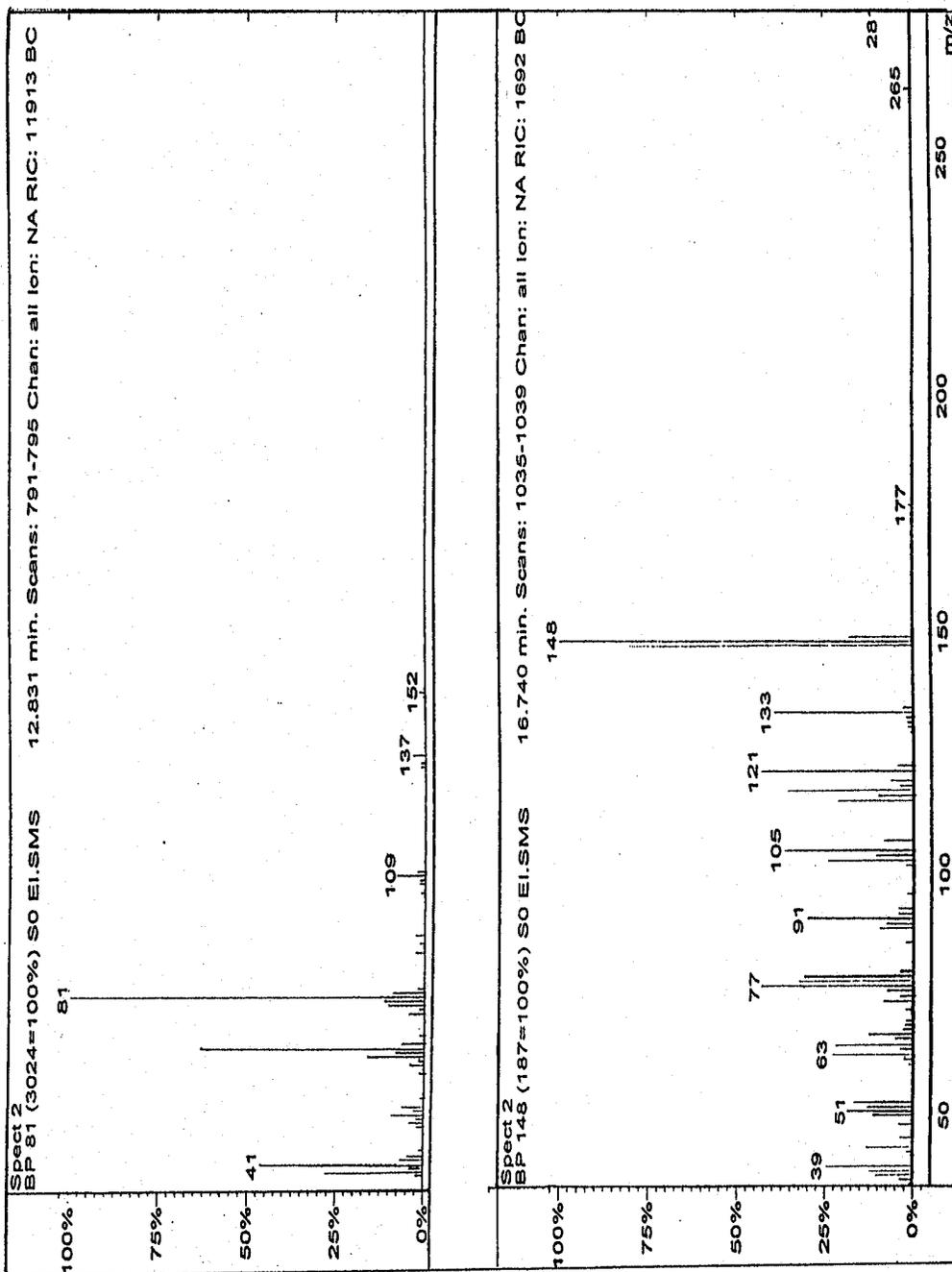


Figure n° 57 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois.

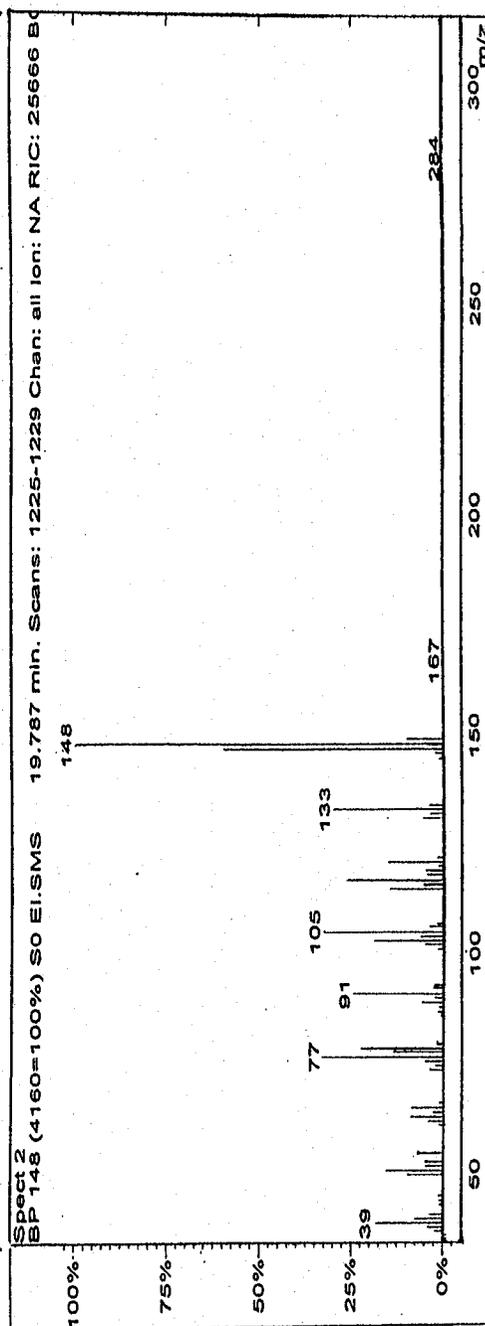


Figure n° 59 : Spectre de masse du composé n° 15 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 4°C pendant 6 mois.

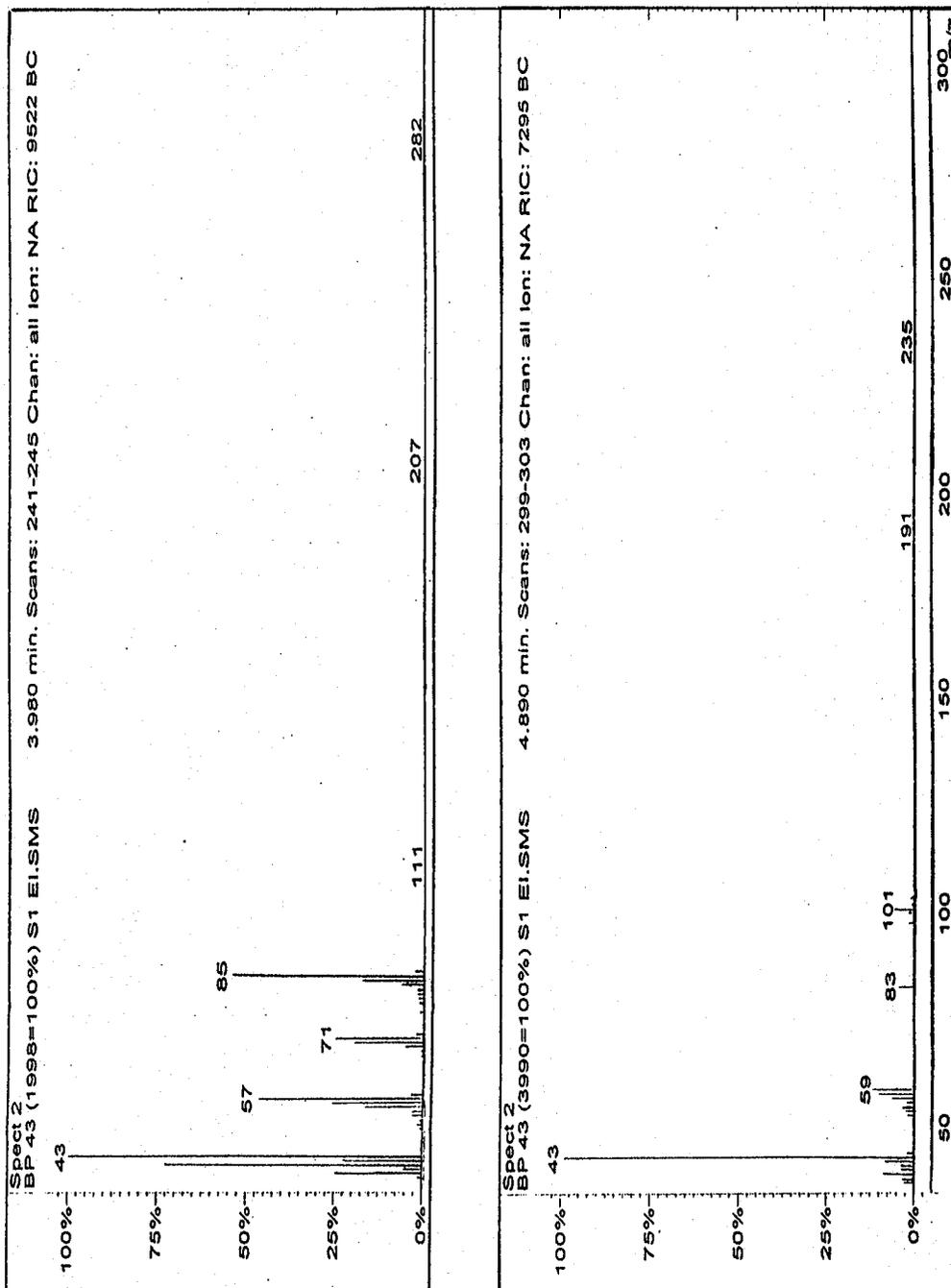


Figure n° 60 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

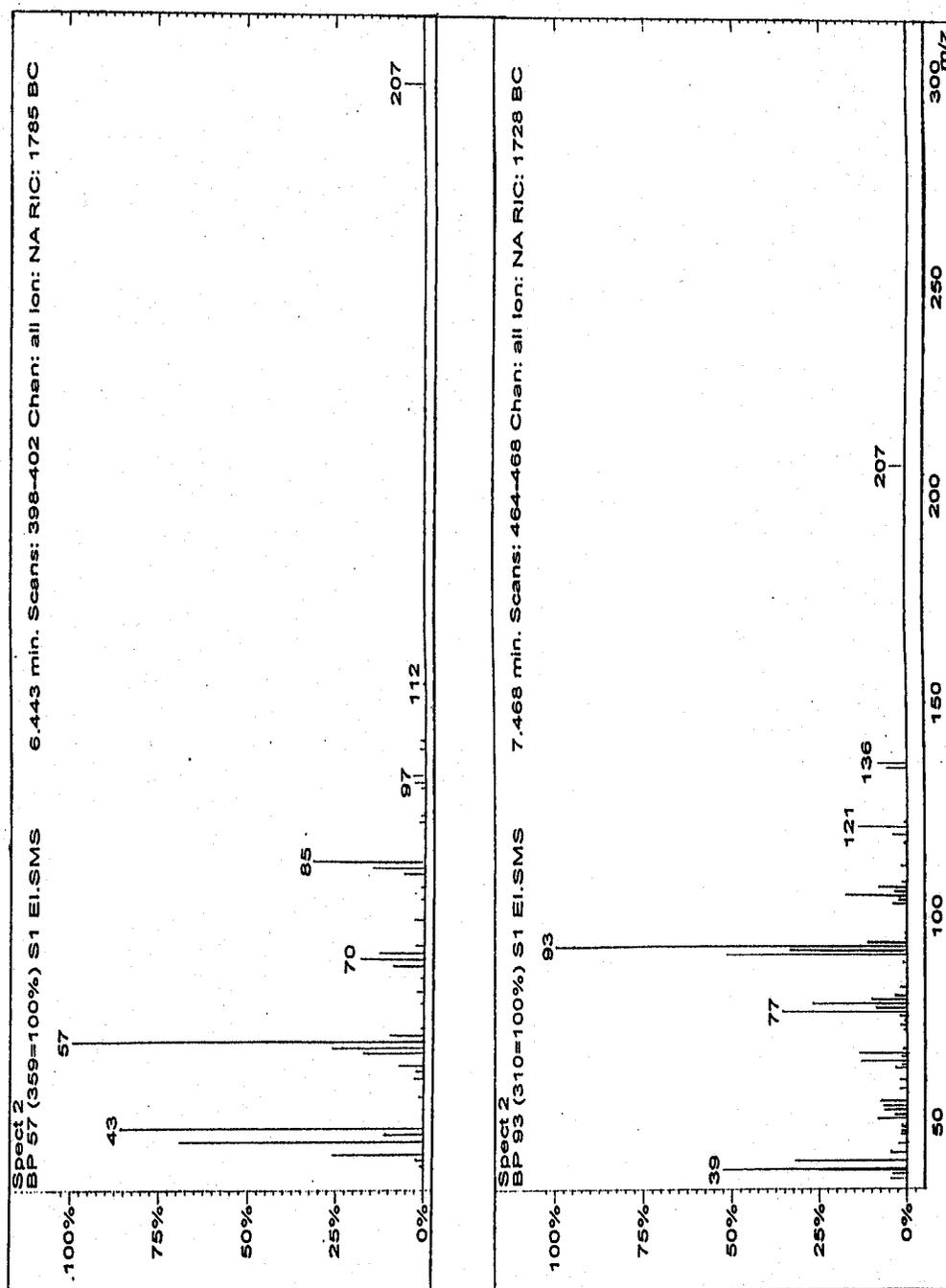


Figure n° 61 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

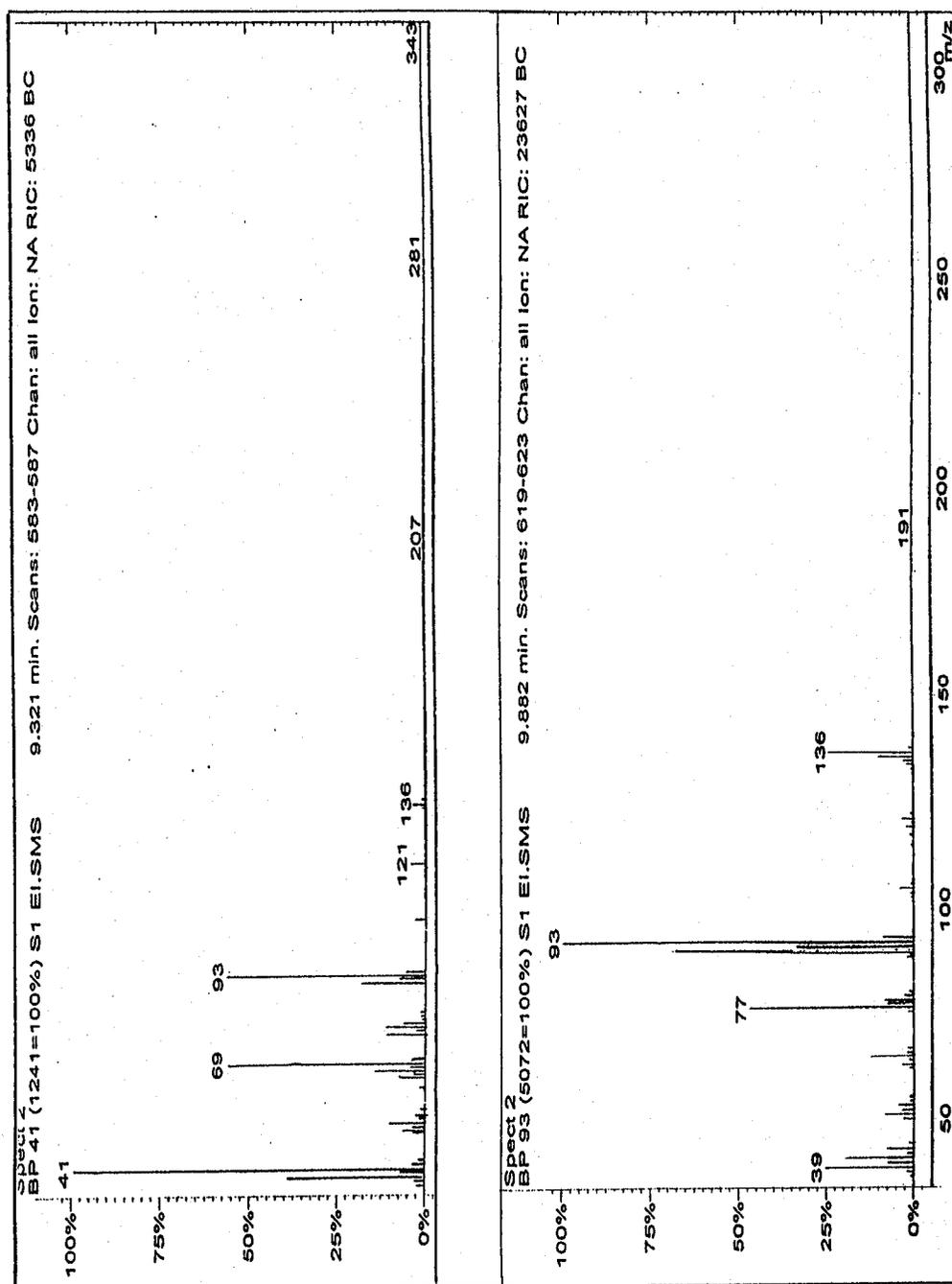


Figure n° 62 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

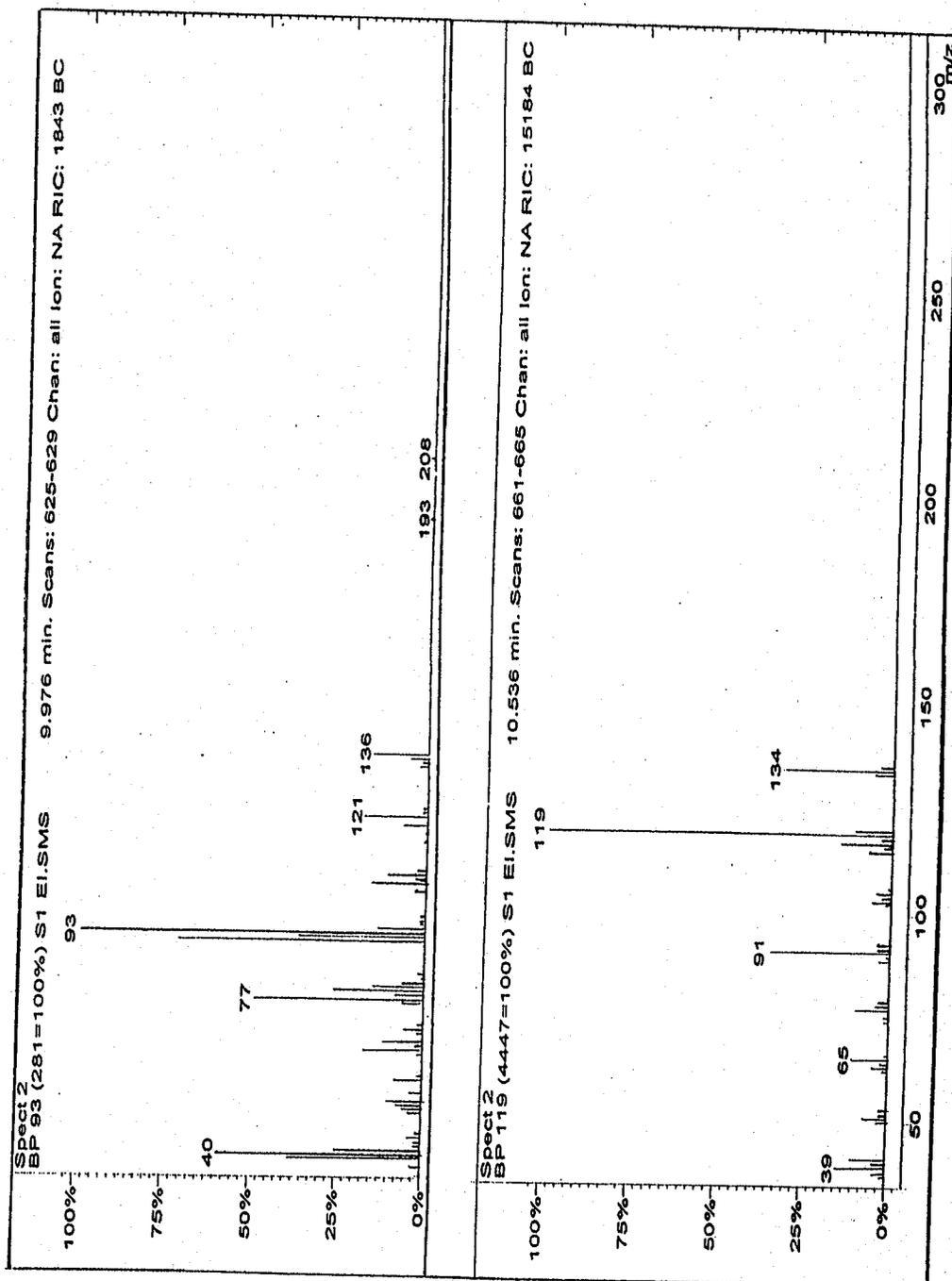


Figure n° 63 : Spectres de masse des composés n° 7 et 8 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

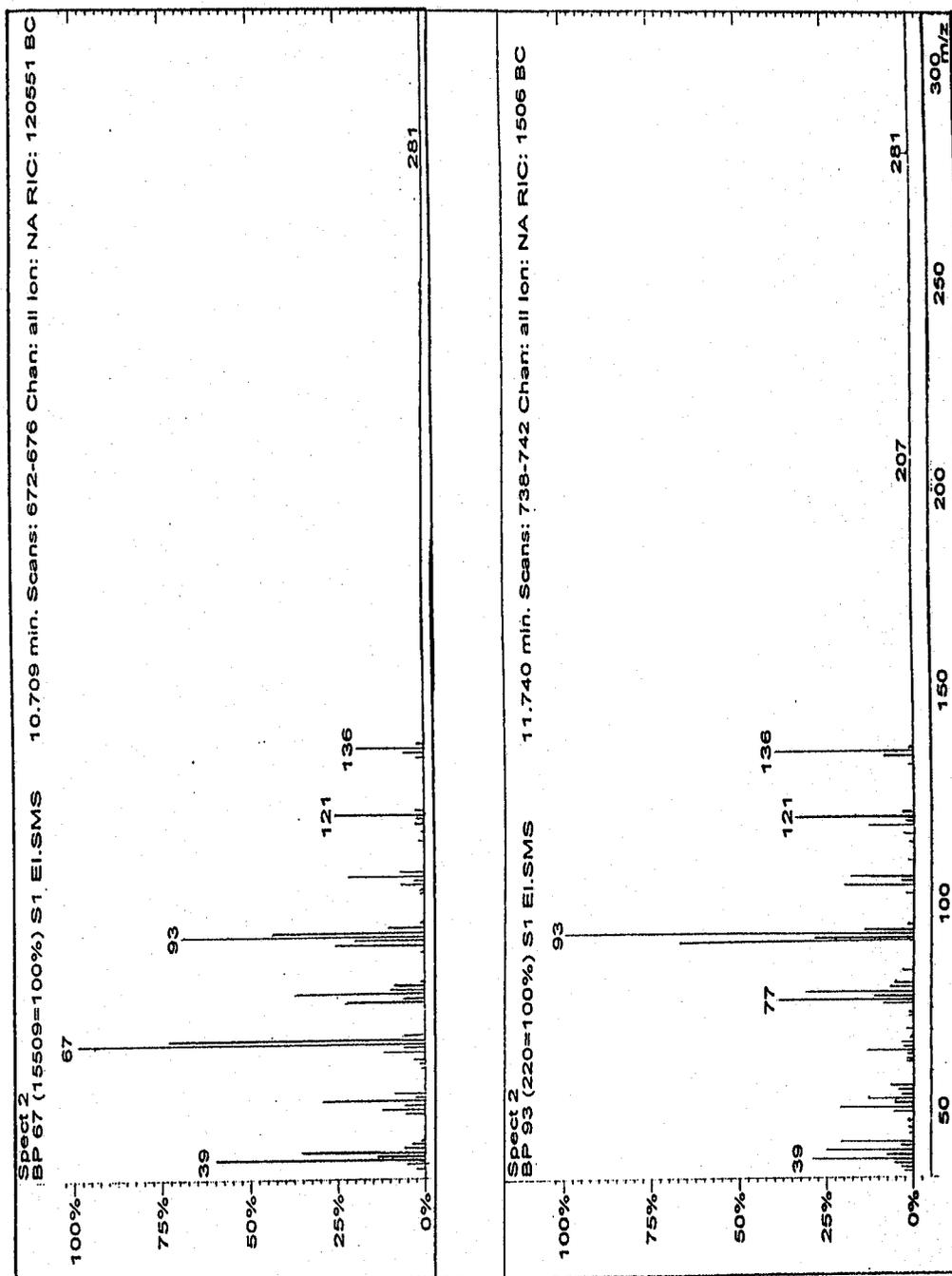


Figure n° 64 : Spectres de masse des composés n° 9 et 10 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

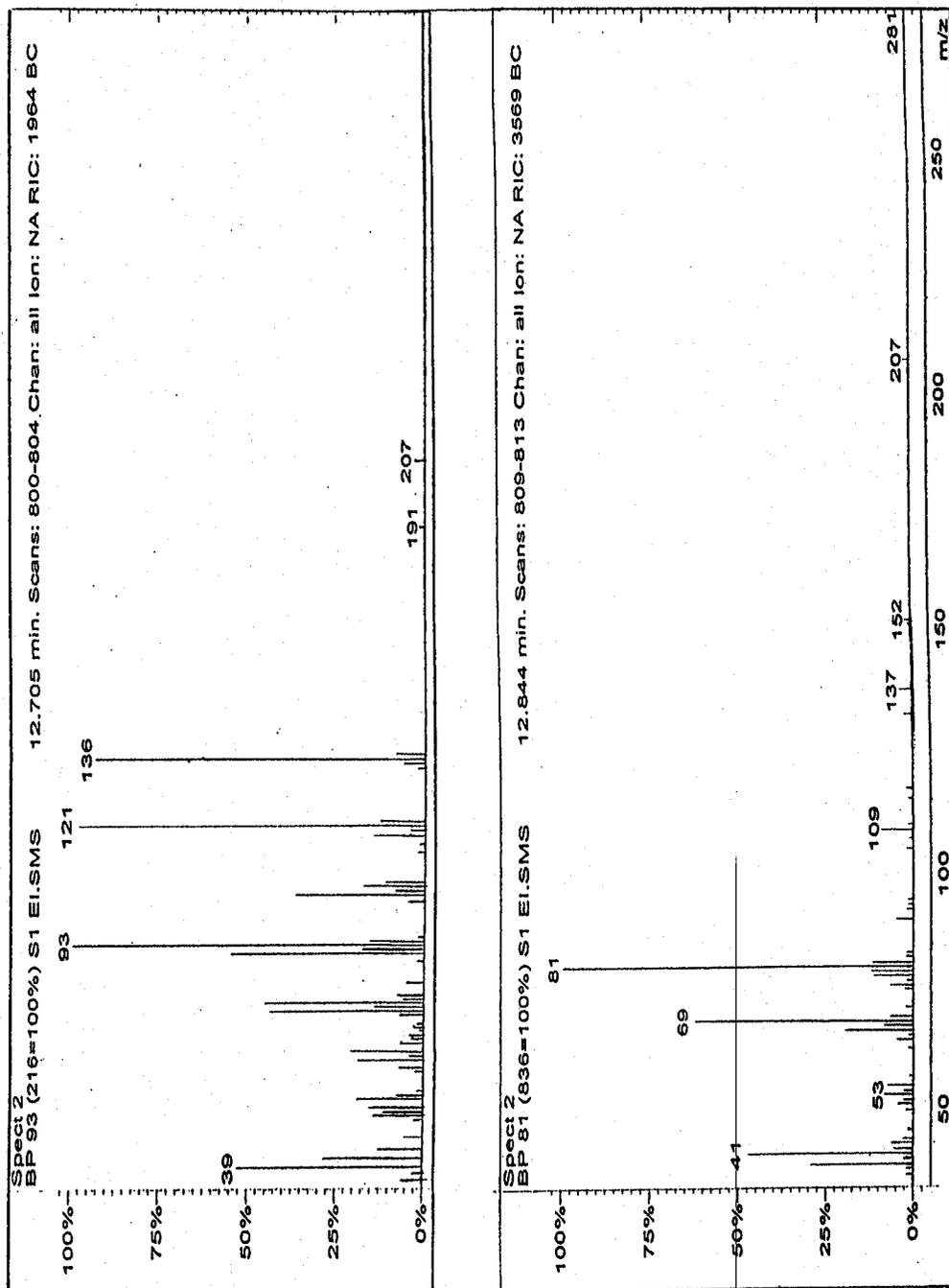


Figure n° 65 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

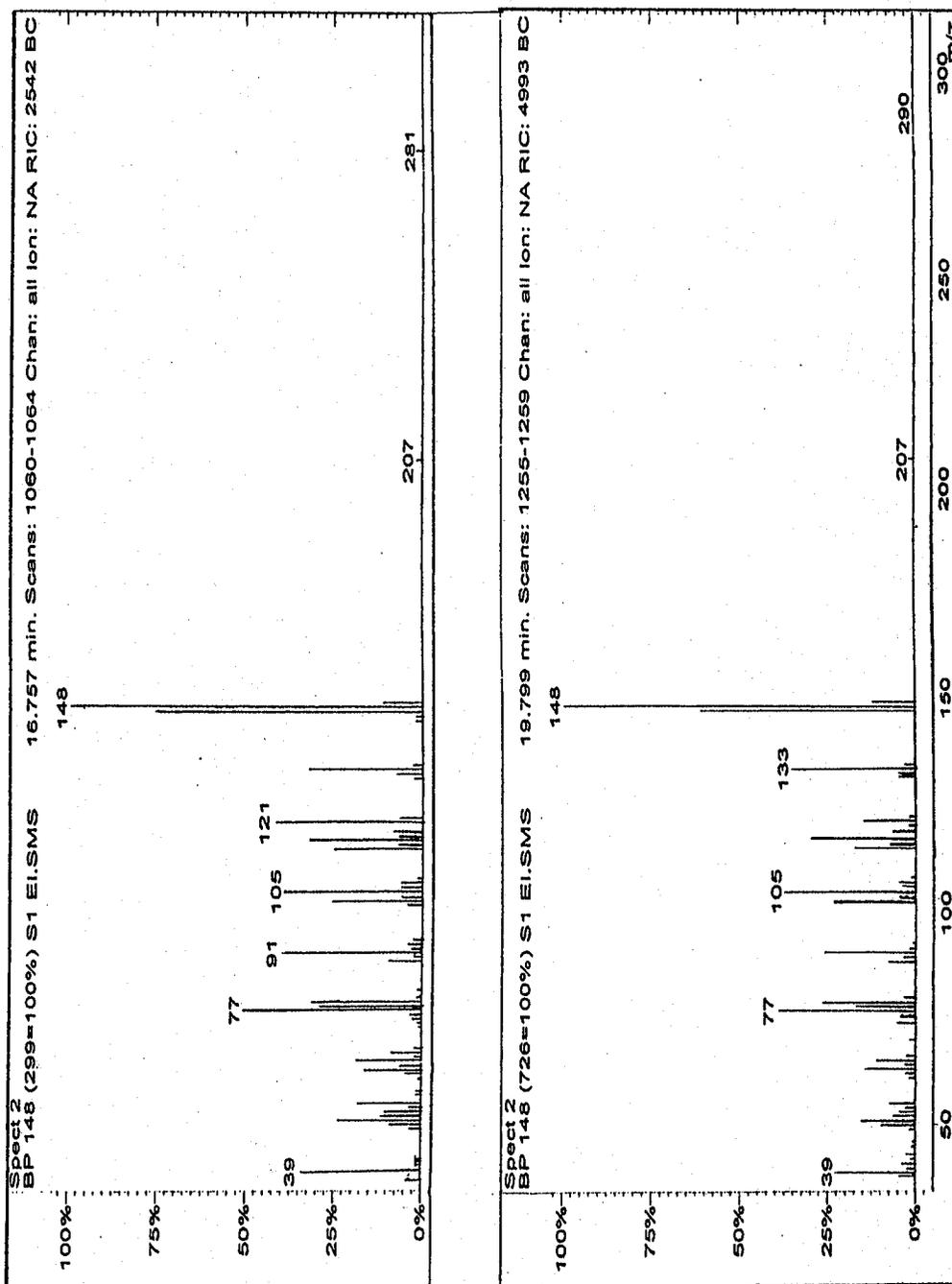


Figure n° 66 : Spectres de masse des composés n° 13 et 14 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

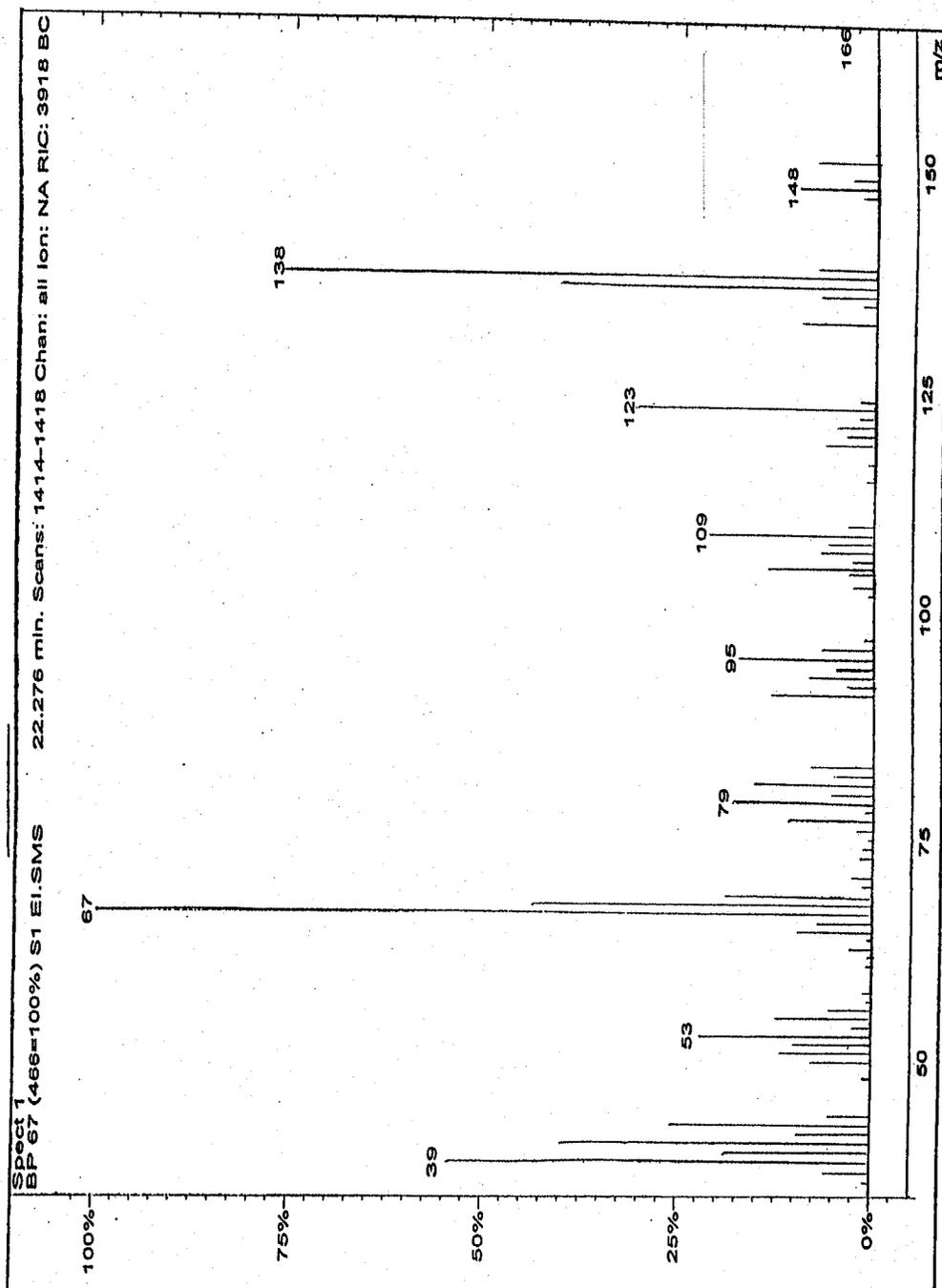


Figure n° 67 : Spectre de masse du composé n° 15 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 27°C pendant 6 mois.

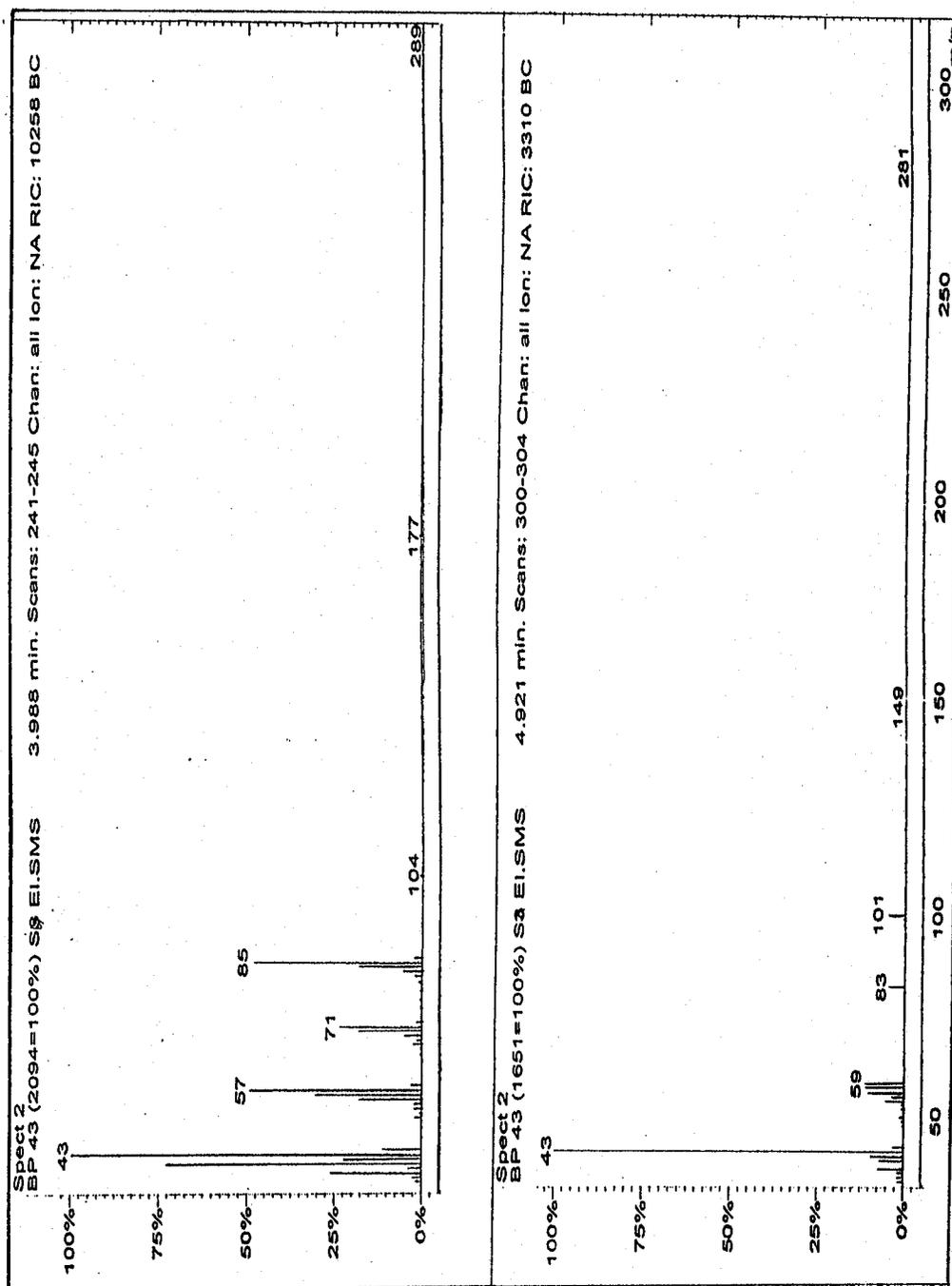


Figure n° 68 : Spectres de masse des composés n° 1 et 2 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

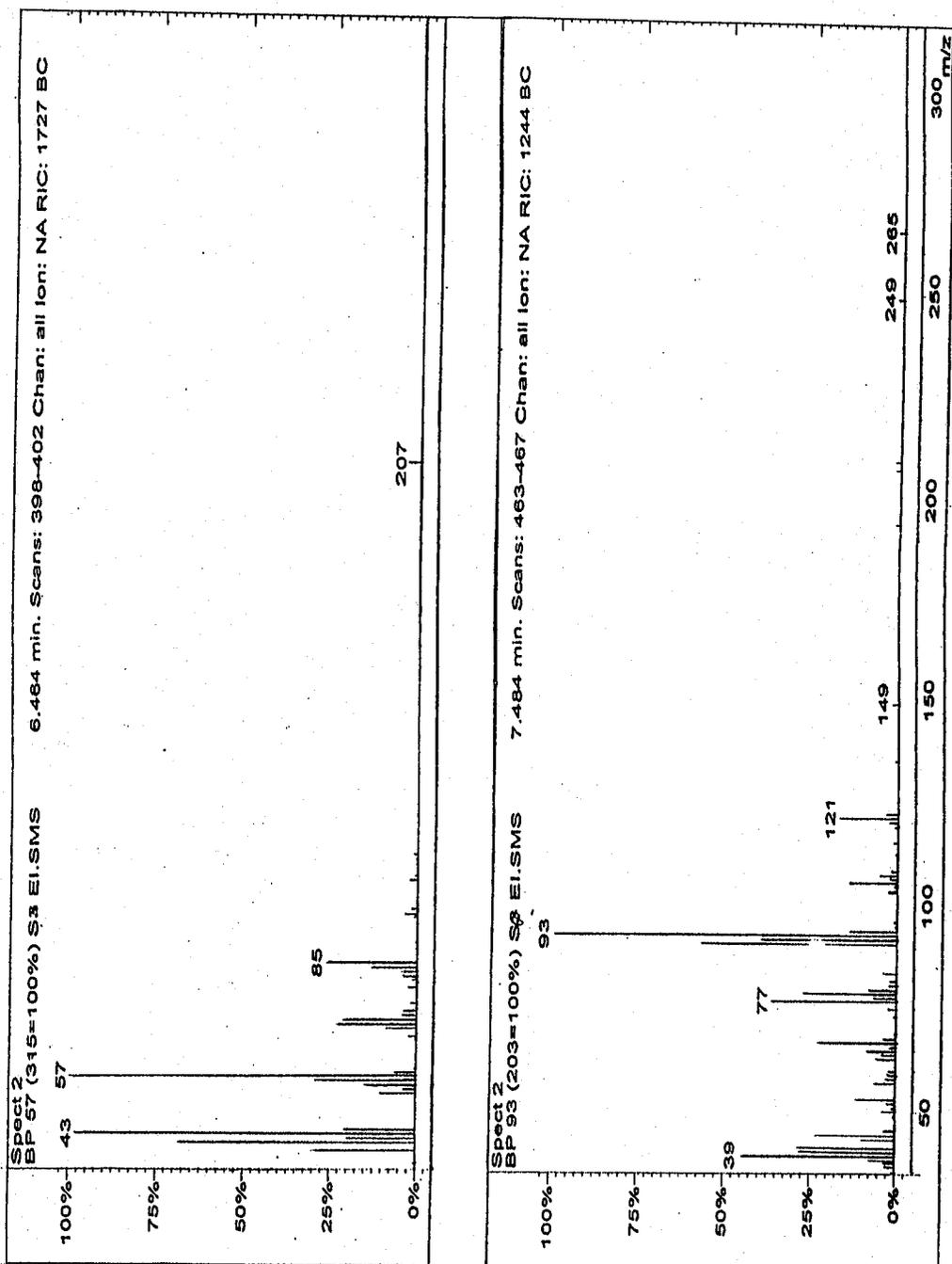


Figure n° 69 : Spectres de masse des composés n° 3 et 4 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

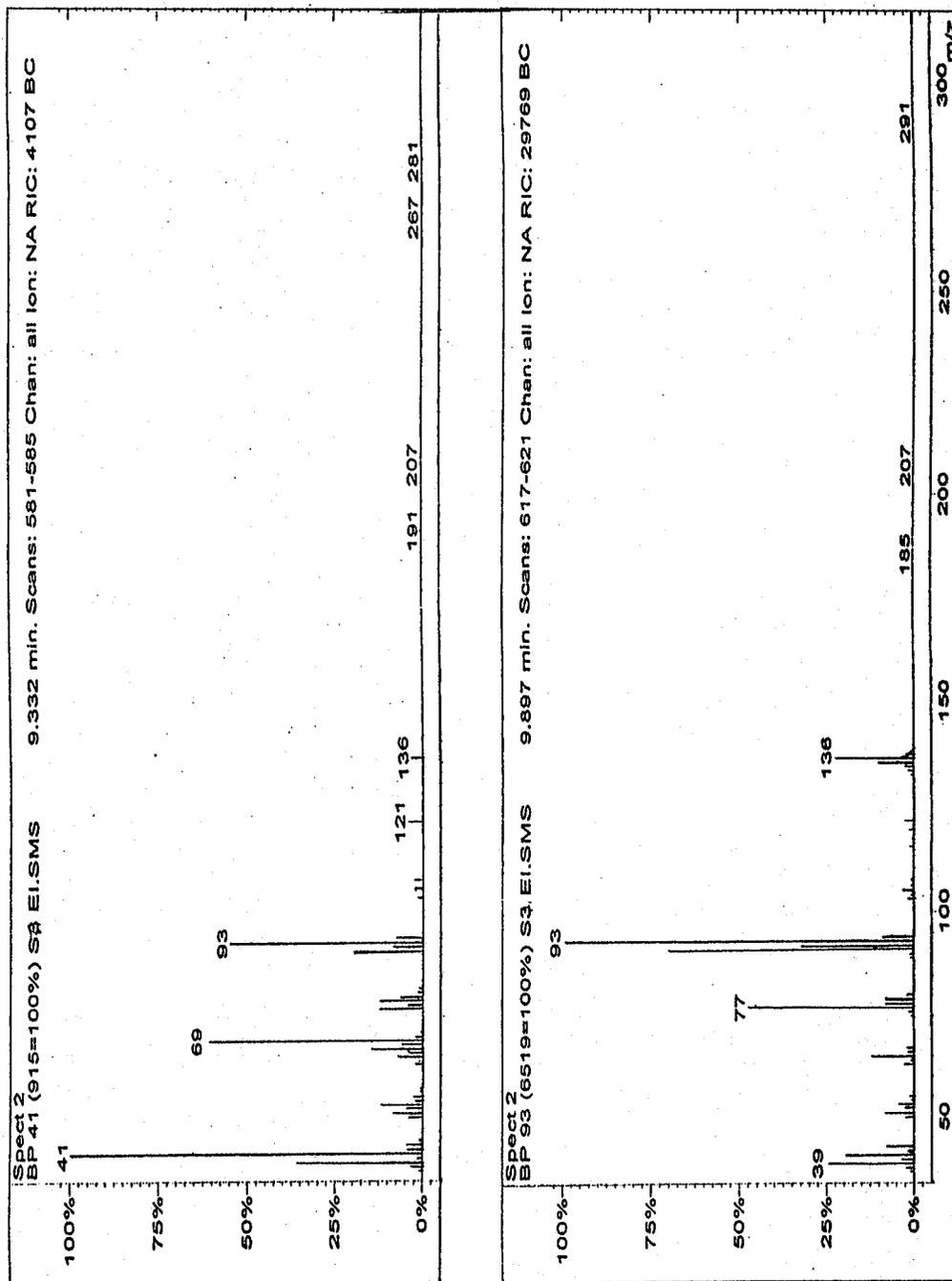


Figure n° 70 : Spectres de masse des composés n° 5 et 6 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

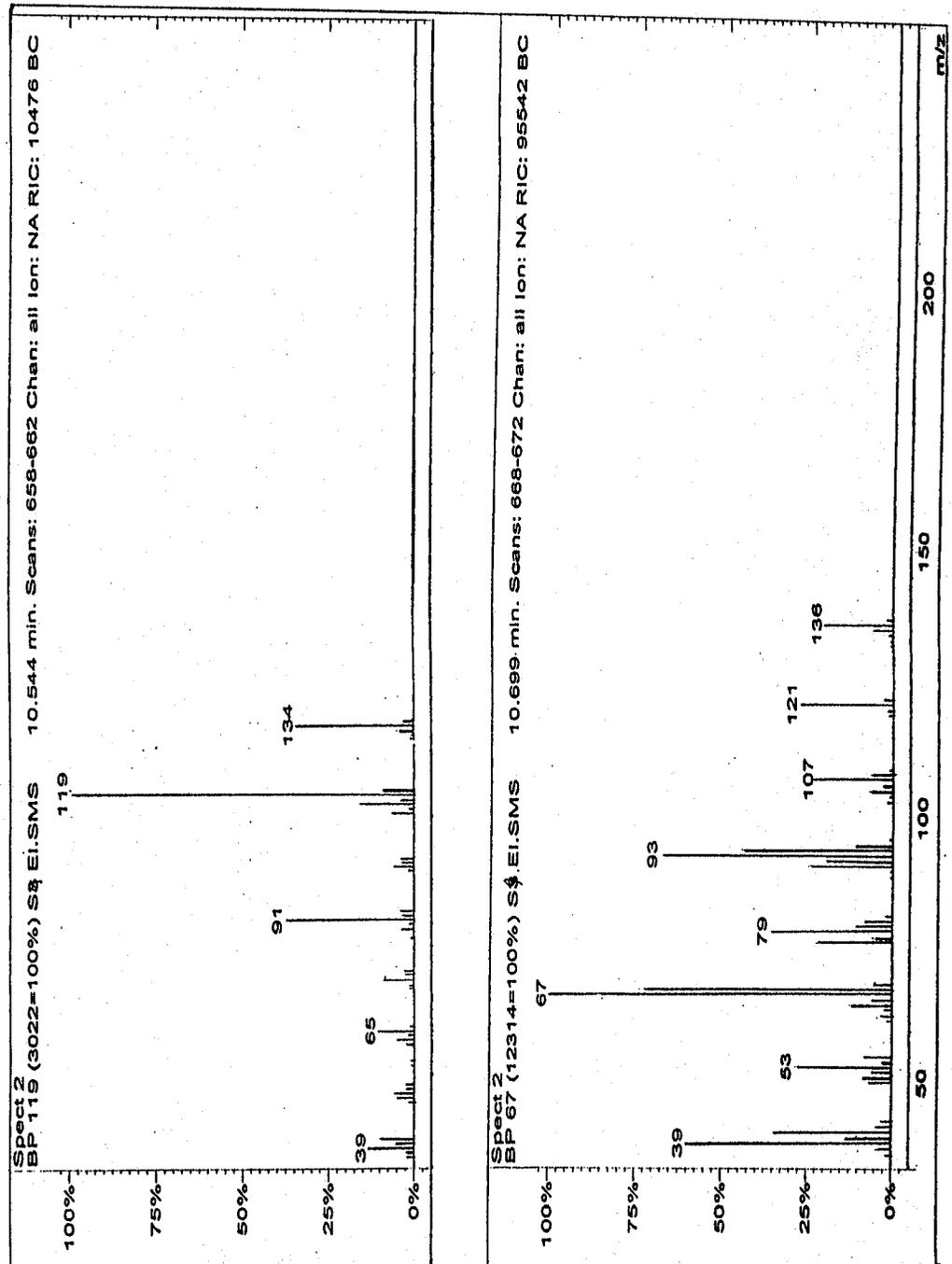


Figure n° 71 : Spectres de masse des composés n° 7 et 8 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

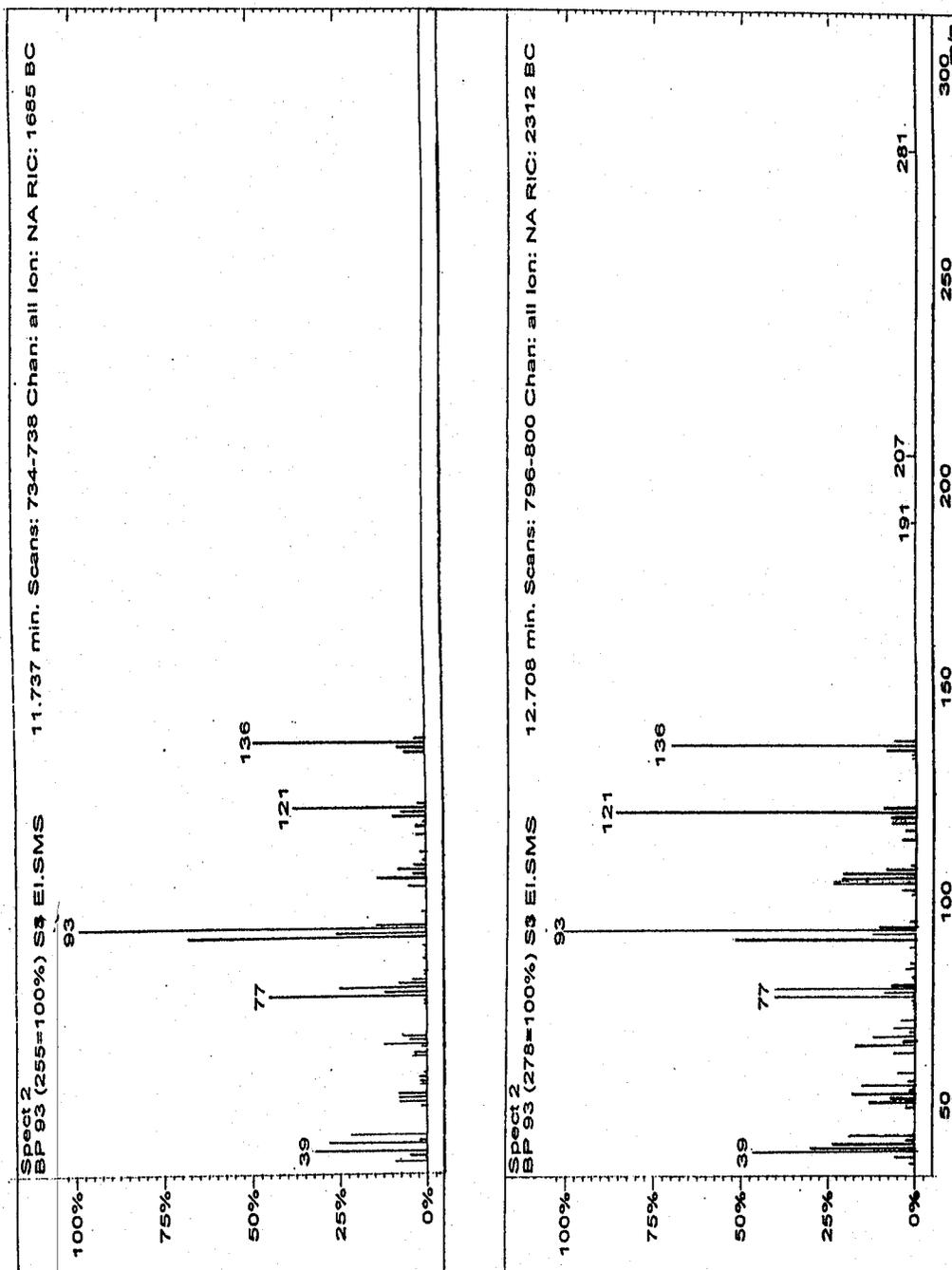


Figure n° 72 : Spectres de masse des composés n° 9 et 10 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

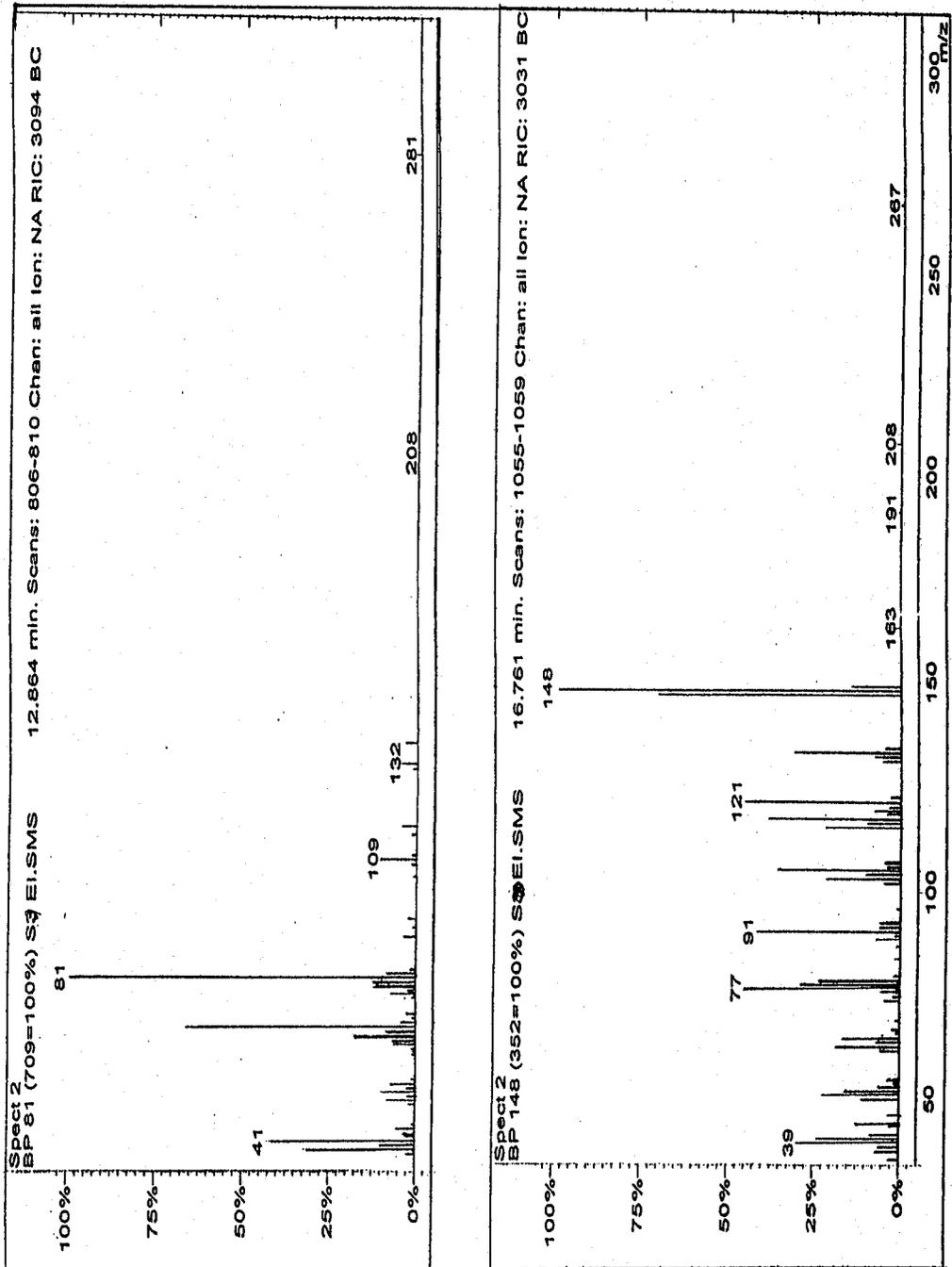


Figure n° 73 : Spectres de masse des composés n° 11 et 12 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

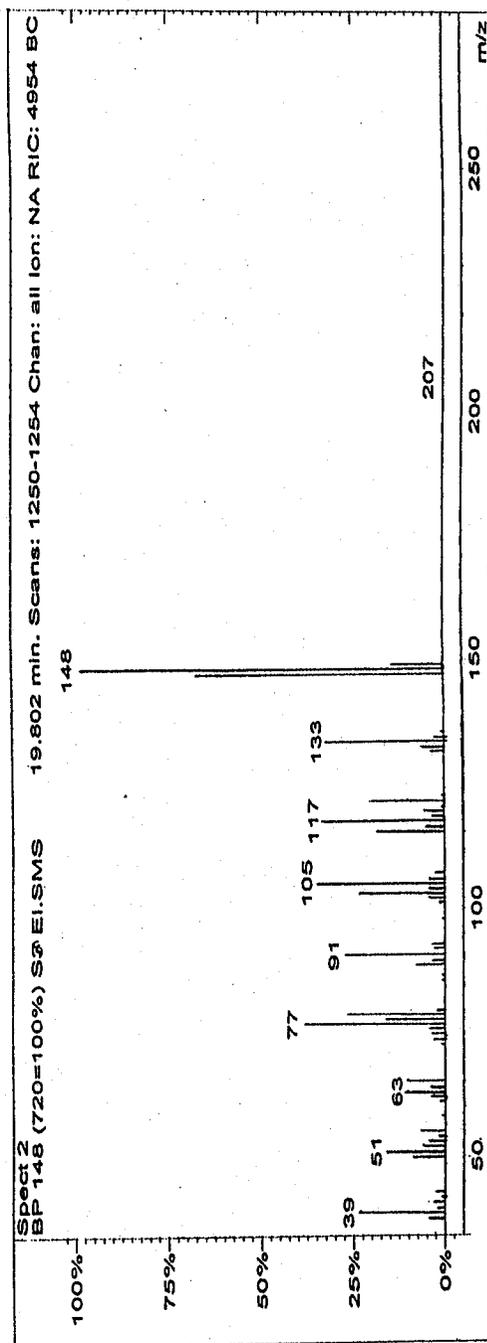


Figure n° 74 : Spectre de masse du composé n° 13 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois.

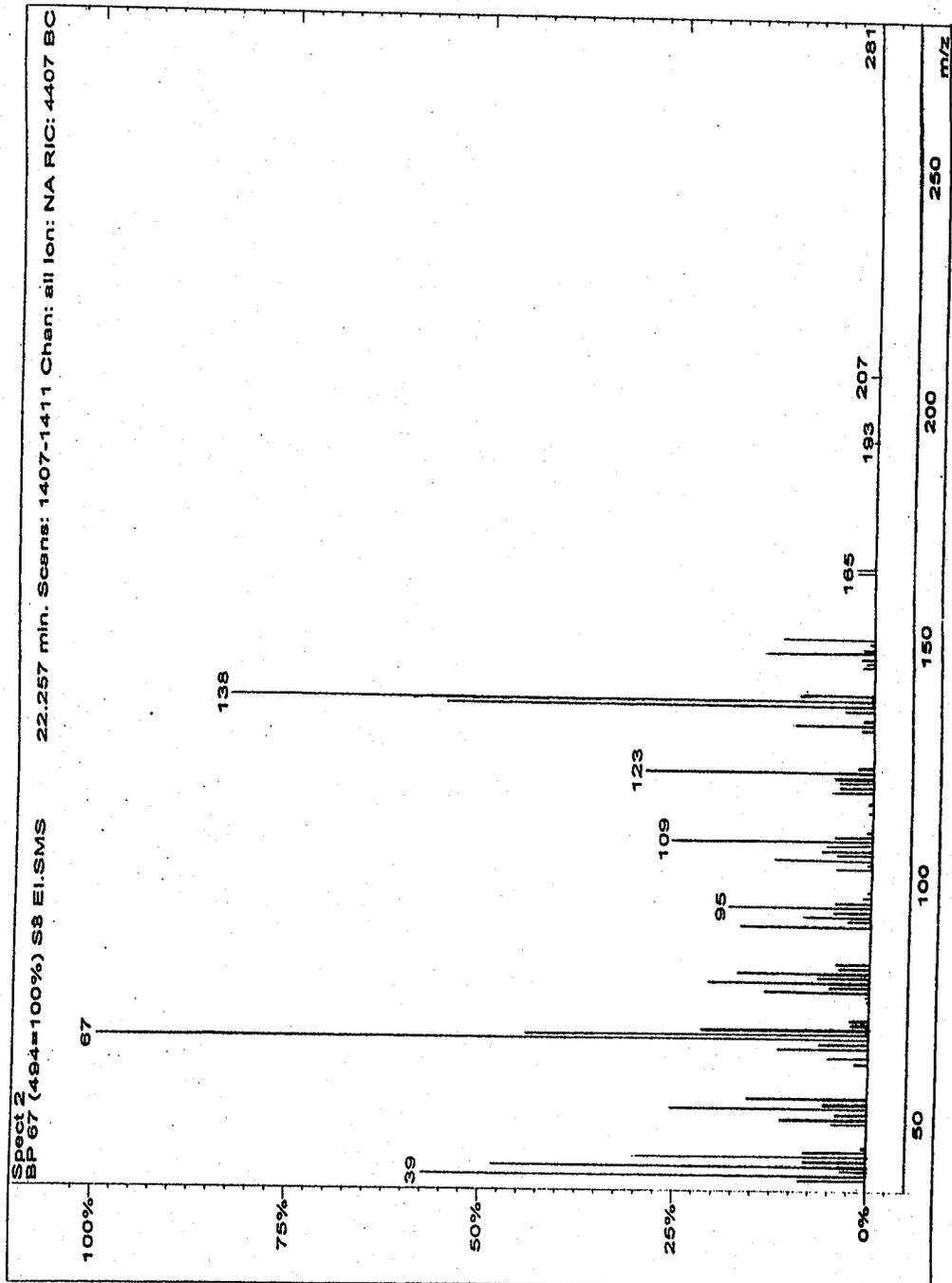


Figure n° 75 : Spectre de masse du composé n° 14 de l'huile essentielle de fenouil de Béni-Ouarsous conservée à 45°C pendant 6 mois

II.3 - CONCLUSION

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis de révéler et d'identifier 5 nouveaux composés à savoir le 2,4 - diMehéptane ; le 4 - hydroxy - 4 Mepentan-2-one ; le 2,4 - diMehexane ; le β -myrcène et le cis-ocimène et ce, pour les deux huiles essentielles de Honaine et de Béni-Ouarsous.

Elle confirme aussi l'absence du cis-anéthole, élément connu pour sa toxicité, dans les deux échantillons d'huile essentielle ; ce qui peut nous laisser dire que les essences de fenouil de Honaine et de Béni-Ouarsous peuvent être considérées comme non toxiques et donc de bonne qualité.

Par ailleurs cette analyse a montré pour les deux huiles qu'au moins pour six constituants considérés parmi les principaux, que leurs teneurs diminuaient quand la température était élevée. En revanche les deux composés majoritaires (le trans-anéthole pour l'huile essentielle de Honaine et le limonène pour celle de Béni-Ouarsous) voient leurs teneurs augmenter avec la température d'une manière très significative (dans les rapports respectifs de 2 et 3). Ce résultat est inattendu car comme il a été signalé précédemment, les huiles essentielles sont des composés très volatils et facilement dégradables et, que si elles sont conservées à une température élevée, cette dernière ne peut qu'agir « négativement » sur leurs compositions.

Enfin, seul le α - phellandrène voit sa teneur évoluer anormalement (en « dents de scie ») lors de la conservation des huiles essentielles et ne suit donc aucune logique.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le *Foeniculum* vulgare Miller, connu sous le nom de fenouil en français et communément appelé « besbes » par les populations locales, appartient à la catégorie des plantes aromatiques et médicinales en raison de ses riches sources de matières odorantes et de ses nombreuses propriétés thérapeutiques. L'huile essentielle qu'elle renferme représente l'une des parties la plus intéressante de part ses diverses utilisations notamment dans les domaines pharmaceutique et cosmétologique et également dans le secteur de l'industrie agro-alimentaire.

Dans le cadre d'une valorisation socio-économique de ces substances naturelles, une étude est réalisée et concerne trois fenouils provenant de trois stations de la région de Tlemcen (Ouest-Algérien) qui diffèrent par leur localisation géographique, leur climat et la nature de leur sol. Il s'agit des régions de Nédroma, de Honaine et de Béni-Ouarsous.

La présente étude est consacrée à l'extraction des huiles essentielles, à la détermination de certaines de leurs caractéristiques physiques et chimiques et à l'étude de leur dégradation par le suivi de l'évolution de trois indices chimiques (indices d'acide, d'ester et de peroxyde) en fonction de la température au cours du temps ; étude n'ayant à notre connaissance jamais été exploitée par d'autres auteurs ni ayant figurée parmi les travaux effectués jusqu'ici sur le fenouil.

Les huiles essentielles sont obtenues par extraction à la vapeur d'eau avec des rendements qui diffèrent d'une station à une autre (le maximum est obtenu pour la zone de Honaine qui bénéficie d'un climat méditerranéen très prononcé et d'un taux d'humidité et de précipitation important) et d'une période de récolte à une autre (le maximum enregistré est celui obtenu au mois de décembre où la plante est mature).

La détermination des caractéristiques physico-chimiques des huiles fraîchement extraites révèle de légères différences et montre que celle issue du fenouil de Nédroma est la plus acide, que celle de Honaine est la plus dense et que toutes les trois présentent des indices de réfraction très voisins.

La conservation des trois échantillons d'huile essentielle en fonction de la température au cours du temps a montré une augmentation de l'IA et de l'IP et une diminution de l'indice d'ester .Ces variations sont d'autant plus importantes pour les essences maintenues respectivement aux températures de 27°C et 45°C. De cela, il est à

retenir que la température idéale pour la conservation d'une huile essentielle est celle avoisinant 4°C (en général entre 2°C et 4°C) car, à cette température, l'échantillon a subi une dégradation relativement moins importante.

La deuxième principale partie de cette étude relative à la connaissance de la composition chimique de la plante entière (graines, tiges et racines) a montré que les teneurs en macromolécules sont relativement acceptables pour une bonne croissance du rat car les valeurs obtenues sont de 17,50% pour les protéines , de 13% pour les glucides et de 12% pour les lipides (ces teneurs sont relativement voisines pour la plante issue des différentes stations d'étude). Aussi, le taux de mortalité observé étant important, un régime à base de farine pure de fenouil n'est donc pas à retenir. Nous pensons que cette mortalité accrue en nombre de ces rats est dûe probablement à la présence de facteurs antinutritionnels (antiprotéasiques, hémagglutinines) et également de composés toxiques (coumarines, tanins). A cet effet, et pour remédier à cette situation, il est souhaitable de procéder d'une part à une élimination des substances toxiques et des facteurs antinutritionnels à l'aide de technique de purification des protéines (isolats protéiques) qui permet d'obtenir un régime dépourvu de tous les composés toxiques et non digestibles et, d'autre part de faire des essais consistant à associer la farine de fenouil à d'autres protéines végétales (protéines de mauve, de coton ou de céleri à titre d'exemples).

Le troisième axe de cette étude concerne l'analyse par CPG et par CG/SM des huiles essentielles de deux fenouils (de Honaine et de Béni-Ouarsous).

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a été appliquée aux huiles essentielles de fenouils de Honaine et Béni-Ouarsous pour des échantillons d'huile fraîchement extraite et conservés à 27°C et 45°C.

Les chromatogrammes pour les échantillons maintenus à 27°C et à 45°C (Honaine) présentent les compositions les moins riches et montrent que cette huile est chémotypée (E) - anéthole et fenchone. Aussi, la teneur du composé majoritaire augmente avec la température.

Les échantillons d'huile essentielle de Béni-Ouarsous lors de leur analyse par CPG présentent des résultats similaires aux précédents. Toutefois, cette huile essentielle est chémotypée limonène – (E) – anéthole.

Concernant le profil chimique des deux huiles fraîchement extraites, on remarque qu'elles présentent les mêmes composants chimiques et qu'elles ne diffèrent que par la proportion de ces derniers, ce qui leur attribue deux chémotypes différents comme déjà cité

et classe par conséquent les deux fenouils tantôt à la même enseigne et tantôt parmi deux sous-espèces différentes.

Quant à l'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a permis de révéler la présence de cinq composés non identifiés par la C.P.G. Elle confirme également l'absence du cis-anéthole, composé connu pour sa toxicité dans les deux échantillons ; ce qui nous laisse penser que les essences peuvent être considérées comme non toxiques et donc de bonne qualité.

Aussi, cette analyse montre comme dans le cas de la CPG que les composés majoritaires voient leurs teneurs augmenter d'une manière très significative avec la température. Ce résultat est inattendu car comme déjà signalé précédemment, les huiles essentielles sont des composés très volatils et facilement dégradables et, que si elles sont conservées à température élevée, cette dernière ne peut qu'agir « négativement » sur leurs compositions.

LITTERATURE CITEE

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) **MAROTTI M., DELLACECCA V., PICCAGLIA R., GIOVANELLI E.** Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* mill. ACTA horticulturæ 331. WOCMAP, Italy. (1993). P 63.
- (2) **FORMACEK V., KUBBECZKA K.H.** Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, John Wiley and sons, New-York. ALNAP Database ref : I.D. (1982). P. 171.
- (3) **GARNIER G., BEZANGER B.L., DEBRAUX G.** Ressources médicinales de la flore française. Tome2. Ed. Vigot frères. Paris IV(1961). P.P.900-902.
- (4) **VERDON M., GOLDMANN T., COLLAR M.** Le fenouil. Ed. Le jardin mangeable (2002).
- (5) **CLINTOCK D., FITTER R.S.R., FAVARGER C.N.** Guide des plantes à fleurs de l'Europe occidentale. De.Switzerland. Paris. (1996).
- (6) **GIRRE L.** Nouveau guide des vieux remèdes naturels. Ed. Lechevalier. (1985).
- (7) **VOLAK J., STODOLA J.** Plantes médicinales. Ed. Grund, Paris (1998).
- (8) **WICHTL M., ANTON R.** Plantes thérapeutiques. Tradition, pratique officinale, science et thérapeutique – 3^e Ed. Tecet Doc. (1999) P.P. 189 – 190.
- (9) **BRUNETON J.** Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. 3^e Ed. Tec et Doc. Ed. Lavoisier. Paris. (1999).P. 783.
- (10) **BADOC A., LAMARTI A.** Contribution à l'étude du genre *Foeniculum vulgare* Actes inst. Agron.vet. Hassan II. No special, soumis (1996).
- (11) **GRIEVE M.** Modern herbal. Ed. Electric newt. (1995).
- (12) **LAWRENCE B.M.** The existence of intraspecific differences specific general in the babiterae family, paper presented in the VII intern congress of essential oils (Cannes) (1980). P.P.118-123.
- (13) **VOGEL G., ANGERMANN H.** Atlas de la biologie. Encyclopédies d'aujourd'hui la photothèque. Librairie générale française (Deutscher taschenbuch verlag GmbH et HG. Munich) (1998).
- (14) **PAUZE – SHIREY N.** Destination soleil. Santé et bien être. Ed. Planète Québec. Inc. (2002).P.P. 1984-1994.

- (15) **FOUCHE J.G., MARQUET A., HAMBUECKERS A.** Les plantes médicinales, de la plante au médicament. Observatoire du monde des plantes. Paris. Exposition (2000).
- (16) **WEISZ G.** Le dictionnaire des médecines naturelles. HO-Z, MS 239. La phytothérapie et l'aromathérapie. Ed. Marabout.S.A. Verviers. (1974).
- (17) **VERDRAGER J.** Les plantes médicinales dans les traitements modernes. Ed. Maloine. S.A. Paris. (1978).
- (18) **MOYSE H.** Matière médicale par R.R. Paris. Collection de précis de pharmacie sous la direction de M.M. JANOT T.I. (1976).
- (19) **VALNET J.** Aromathérapie. Traitement des maladies par les essences de plantes. Ed. Maloine S.A. Paris (1984). P.P. 197-199.
- (20) **SIMON J.E., CHEDWICK A.F., CRAKER L.E.** The scientific literature on selected herbs, and aromatic and medicinal plants of the temperate zone. Archon books, Hamden, CT. (1984).
- (21) **CHIEI R.** The Macdonald encyclopedia of medicinal plants. Macdonald & co.London. (1984).
- (22) **CHARLES D.J., MORALES M.R., SIMON J.E.** Essential oil content and chemical composition of finocchiofennel. In Janick J. and SIMON J.E. Ed. New crops. Wiley, New-York. (1993). P.P. 570-573.
- (23) **BOREL M.** La gastronomie : le fenouil, saveur d'origine. Ed. Dunod. Paris. (1997).
- (24) **BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier. Tec. Et Doc. Paris (1987).
- (25) **MALINI T., VANITHAKUMARI G., ANUSYA S. DEVIK R., ELANGO V.** Effect of *Foeniculum vulgare* Mill. Seed extract on the genital organs of male and female rats. Indian journal of physiology and pharmacology. (1985).P.P. 216-229 (1985).
- (26) **EL-BARADAI S., LYOUSSI B., WIBO M., MOREL N.** Pharmacological evidence of hypotensive activity of marrubium vulgare and *foeniculum vulgare* in spontaneously hypertensive rat. CLIN. AND EXPER. HYPERTENSION, 23 (4) (2001). P.P. 329 – 343.
- (27) **KARNICK C.R.** Pharmacopocial standards of herbal plantsz. Delhi : sri. Atguru. Publications vol 1 : 139 – 141, vol 2. 71 (1994).
- (28) **BEZANGER B.L., PINKAS M., TORCK M.** Les plantes dans la thérapeutique moderne. Ed. Maloine. Paris. (1975).
- (29) **BIANCHI F., CORBETTA F.N.** Atlas des plantes médicinales. Ed. Française. Paris (1975).

- (30) **ABRASSART J.L.** Aromathérapie essentielle (huiles essentielles et parfums pour le corps et l'âme). Guy Trédaniel. Editeur FLORILAB. (2001).
- (31) **ALBERT-PUELO M.** Fennel and anise ase estrogenic augents. Journal of Ethnopharmacology (2). (1980). P.P. 337 – 344.
- (32) **ELGHEDE J.A., ELSON C.E. OURESK A., TANNER M.A., GOULD M.N.** Inhibition of DMBA induced mammary cancer by the monoterpenes – limonene. Carcinogeneris. (5) (1984).P.P. 661-669.
- (33) **DUKE J.A.** Handbook of medicinal herbs. CRC press.boca rato, FL. (19) (1985). P.P.198-199 . (1997). P.P. 2943-2950.
- (34) **CHAINY G.B.N.** et al. Anethole bloks early and late cellular responses tranduced by tumor necrosis factor : effect on NF kb, AP-1, JNK, MAPKK and opoptosis. Oncogene, (19) (2000).P.P. 2943 – 2950.
- (35) **DUQUENOIS P.** Parfums, cosmétique, saveur Ed. Masson (11). (1968) P.P. 414-418.
- (36) **KALSEN J., BAERHEIM SVENDSEN A, CHINGOVA B., ZOLOTAVITCH G.** Studios on the fruits of *Foeniculum* species and their essential oil. Planta med.17(1969). P.P.281-293.
- (37) **A.F.N.O.R.** Association francaise de normalisation.Recueil de normes françaises . Huiles essentielles .2^e Ed. (1986).
- (38) **BELAICHE P.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1, l'aromatogramme. Ed. Maloine S.A Paris (1979).
- (39) **ALCARAZ.** « La tetraclinaie sur terre rosa en sous-étage sub-humide inférieur chaud en Oranie (ouest-algérien). Ecologie méditerranéa. IX (2) (1983). P.P.110-131.
- (40) **SOLTNER D.** Les bases de production générale. « Le sol » . Tome 1. Ed. CSTA. (1988). P.466.
- (41) **BOUABDELLAH H.** Laboratoire d'écologie et gestions des écosystèmes naturels. Equipe : Eco-pédologie/cartographique . Université Aboubekr Belkaid – Tlemcen (2002).
- (42) **CLARIS P.** Les médecines douces. WWW.Aci-multimedia.net/feminin : Médecine douce (2001).
- (43) **PADRINI F., LUCHERONI M.T.** La nature des huiles essentielles. Ed. Dexecchi. (1997).
- (44) **VIAUD H.** Les huiles essentielles et leur distillation . Thérapeutiques naturelles . Ed. GNOMA (1993).

- (45) **GARNERO J.** Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Technique. Encycl. Med. Nat. (Paris, France), phytothérapie, aromathérapie, C. 2 (1991). P.P. 9-200.
- (46) **PARIS M., HURABIENNE M.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie). Tome I. Généralités morphologies. Ed. MASON, Paris ISBN : 2-225-66165-0 (1981) P.P. 182-216.
- (47) **NAVES Y.R., IGOLENG H., BENEZET L.** Les menthes basiliques renfermant du menthofurane. Parfumerie moderne, 38. (1954).P.P. 15-16.
- (48) **GARNERO J.** Quelques problèmes rencontrés au cours de l'obtention du contrôle et de l'étude de la composition d'une huile essentielle. Communication présentée aux journées de la dermapharmacie Nice, 22-23 Mai (1976).
- (49) **RICHARD H.** Les arômes. Cahier de nutrition et diététique V.XXIV N° 2 (1989) P.P. 2-6.
- (50) **BENMANSOUR A.** Etude et valorisation de l'armoise blanche de l'ouest algérien et des noyaux de dattes algérienne. Thèse de doctorat es sciences physiques. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. (1999) P.P. 29-30.
- (51) **LUCCHESI M.E., CHEMAT F., SMADJA J.** An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices. Flavour and fragrance journal (19). (2004). P.P. 134-138.
- (52) **ZLOTORZUNSKI A.** Annal. Chem. V.25. N. 1 (1995) P.P.43-76-89.
- (53) **CALINESCU et al.** Microwave assisted extraction of essential oils from vegetal. Farmacia journal (1) N° 5 (2002).
- (54) **BENJILALI B.** Extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques et médicinales. Cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Congrès international sur les huiles essentielles. Rabat. Maroc. (2004).
- (55) **CARREE P.** Précis de technologie et de chimie industrielle. Ed. Brillière J.B. et Fils, T3. (1953).
- (56) **MESSAOUD H.** Study on essential oils in seeds of some fennel cultivars under egyptian env. Condition. Planta. Med. (1992). P.58.
- (57) **TABET-AOUL A.** Contribution à l'étude de l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* Miller. Identification et dégradation. Thèse de Magister. Fac. Des sciences. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen (2004).

- (58) **CARNILLOT P., ANTOINE P., BELAICHE P., FLEURENTIN L. , GIRRE G.G. , VILLAUME G. , MAZAR S.** Encyclopédie des médecines naturelles – phytothérapie – Aromathérapie – Ed. Techniques. Paris France (1991).
- (59) **LEGRAND G.** Manuel préparateur en pharmacie . 8^{ème} Ed. Masson . (1978). P.P. 284-286.
- (60) **OSISIOGU I.U.W.** Essential oils of Nigeria. Part.II. West African pharmacist. (1966).P. 88..
- (61) **BULMANN et ZEITSCHERL.** Ber. Dtsh. Chem. Ges. (1913), 46, 1178.
- (62) **PROCTOR B.E et KENYON E.M.** Food technology (1949) 3, 387.
- (63) **BUCKHOLZ R., DAUN H. J.** Food science (1978),P.P. 148 - 535.
- (64) **GARNERO J., ROUSTAN J.** Etude analytique et chromatographique des modifications affectant les huiles essentielles à usage alimentaire au cours de leur conservation . Est rallo dalla riv. Italiana essenze, profumi, piante officinali, aroma tizzanti, syndets, saponi, cosmetici, aerosol. N.5 (1979).
- (65) **GUINIER G. , GUIMBAL R.** Chimie . Collection des sciences physiques Goerges Guinier. Ed. Bordas. (1970).
- (66) **GLINKA A.** Chimie générale . T.2. Ed. MIR Moscou (1987) P.P. 148-150.
- (67) **VAN GANSEN P., ALEXANDRE H.** Biologie générale. 4^{ème} édition, MASSON. Paris . IBSN. (1977). 2-225-58440-8 ISSN : 1240 – 1714.
- (68) **BOULANGER P., PLONOVSKI J., BISERTE G., DAUTRVAUX M.** Les constituants des organismes vivants . Ed. Masson . (1979). P.134.
- (69) **BAGHDIKIAN B., LANHERS M.C., FLERENTIN J., OLLIVIER E., BALANSCUD G., MORTIER F.** Analytical study, anti-inflammatory and analgesic effet of Harpagophyhim procumbens and Harpagophyhim zeyheri . Planta Medica. 63, 2, (1997) P.P. 171-176.
- (70) **STRACK D.** Phenolic metabolism. Dans : Plant Biochemistry, Academic press. (1997), P. 387.
- (71) **GUIGNARD J.L.** Biochimie végétale. Ed. Masson S.A Paris, (1996). ISBN : 2-225-85016.
- (72) **A.F.N.O.R.** Dosage des cendres brutes. NF V 18 – 101. In « aliments des animaux » 2^e Ed. 1985.
- (73) **LECOQ R.** Manuel d'analyse alimentaire et d'expertise usuelle. V. II. Ed. Doin. Paris. (1995).

- (74) **ADRIAN J., POTUS J., POIFFAIT A., DAUVILLIER P.** Introduction à l'analyse nutritionnelle de denrées alimentaires. Ed. Lavoisier Tech. et Doc. Londres, Paris, New-York. (1998) ; P. 62.
- (75) **MASHEV N., IVANOV P.** Manuel de travaux pratiques de biochimie végétale. Sofia, Bulgarie. (1989). P. 38.
- (76) **KJELDHAL J.** « New methode zur bestimmung des stickstoffs in organischem korpon » . Z. Anal. Chem. V.22 (1883). P.P. 366-382.
- (77) **MIDDLETON E.** and al. « Pharmacological review ». V.52. N.4. (2000). P.P. 673-751.
- (78) **MEMELINK R., VERPOORT J., KIJINE J.W.** Organization of jasmonate responsive gene expression in alkaloid metabolism. Trends in Plant Science (2004). N.6. P.P. 212-221.
- (79) **HARBONE J.B.** The flavonoids. Advances in research since 1986. Eds. Chapman and Hall. London. (1993). P. 652.
- (80) **CAVE A.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 2^{ème} Ed. Tec. et Doc. Ed. Lavoisier , Paris (1993). P.P. 274.285.
- (81) **SCALBERT A.** Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry (1991). N.30. P.P. 3875 – 3883.
- (82) **BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec. et Doc . Ed. Lavoisier. Paris. (1999). P.P. 370 – 388.
- (83) **LAROUSSE.** Encyclopédie des plantes médicinales : identification, préparation, soins. (2001). P.P. 14-16.
- (84) **BRUNETON J.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed. Tec. et Doc . Ed. Lavoisier. Paris. (1999). P.P. 263-267
- (85) **HOULT J.R.S., PAYA M.** Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins : natural products with therapeutic potential. Gen. Pharmacol. (1996). N.27.P.P. 713-722.
- (86) **NAMBA T., MORITA O.S., HUANG S.I., GOSHINA K., HATTORI M., KAKIUCHI N.** Studies on cardio-active crude drugs. Effects of. Coumarins on cultural myocardial cells. Planta medica. (1988). N. 54.P.P. 277 – 282.
- (87) **RODRIGUES C.A., OLIVERA A.E., SILVA A.F.S., CECHINET-VILHO V., GUIMARA C.L., YUNES R.A., DELLE MO-NACHE F.** A comparative study of stationary phase for separation of biflavonoids from *Rheechia gardneriana* using column chromatography. Z. Naturf – orsch. (2000). N.55. P.P. 524-527.

- (88) JACKMAN R.L., SMITH J.L. Anthocyanins and Betalains in « Natural Food colorants ». Ed. Hendry G.A.F. and Houghton J.D., Blackie Academic and Professional London . (1996). P.P. 244-309.
- (89) LINDEN G., LOVIENT D. Biochimie agro-industrielle. Valorisation alimentaire de la production agricole. Ed. Masson. Paris. (1994). P.P. 104- 109.
- (90) KAMM W., DIONISI F. Analysis of steryl in cocoa butter by on-line liquid chromatography-gas chromatography. J. of chromatography A. (2001). N. 918. P.P. 341 – 349.
- (91) CLOUET-DUMAS A.S., LE BIZEC B. Biosynthesis of 6 - β hydroxymethyltestosterone using bovine hepatocyte cultures. J. of Steroids Biochemistry and Molecular Biology . (2000). N. 74. P.P. 57-62.
- (92) FACINO R.M., CARINI M., ALDINI G. and SAIBENE L. Anti-Elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenines from hederia helix, Aesculus hippocastanum and Ruscus aculeatus : factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. Arch. Pharm. (Weinheim). (1995). N. 328. P.P. 720 – 724.
- (93) BERTRAND V., BELLEVILLE J. Effet de la farine de coton sur certains paramètres hépatiques et sur l'histologie du foie et des testicules de rats suite à une carence protéique sévère (2% de caséine) . British journal of nutrition . (1991). N.66. P.P. 2-13.
- (94) TOHTH L. Untersuchungen über das ätherische Öl von *Foeniculum vulgare* II. Veränderungen der verschiedenen Fenchelole vor und nach der Ernte. Planta Med. (1967). 15. P.P. 371-389.
- (95) KARLSEN J., BAERHEIM SVENDSEN A., CHINGOVA B., ZOLOTOVITCH G. Studies on the fruits of *Foeniculum* species and their essential oil. Planta Med. (1969). 17 : P.P. 281-293.
- (96) EMBONG M.B., HADIZER D., MOLNAR S. Huiles essentielles des épices cultivées dans Alberta . Essence de fenouil (variété vulgare et dulce du *Foeniculum*). Bidon J. Usine Sci. (1977). 57 : P.P. 829 – 837.
- (97) KATSIOTIS S.T. Study of different parameters influencing the composition of hydrodistilled sweet fennel oil. Flavour Fragrance J. (1988). 4 : P.P. 221-224.
- (98) LAMARTI A., BADO C., CARDE J.P. Etude chromatographique de l'huile essentielle de la plantule de fenouil amer (*Foeniculum vulgare* mill) : caractéristiques spectrales (UV – IR – SM) de ses constituants . Bull. Soc. Pharm. Bordeaux . (1993). 132 : P.P. 73-89.
- (99) BADO C., DEFFIEUX G., LAMARTI A., BOURGEOIS G., CARDE J.P. Essential oil of *Foeniculum vulgare* mill. (Fennel) subs p. Piperitum (Ucria) Cont. Fruit. J. Essential oil Res. (1994). 6 : P.P. 333-336.

- (100) **BADOC A., LAMARTI A., CARDE J.P., DEFFIEUX G.** Hybridation intraspécifique chez le fenouil (*Foeniculum vulgare* mill.). Bull. Soc. Pharm. Bordeaux . (1995). 134 : P.P. 107-126.
- (101) **BADOC A., LAMARTI A.** Contribution à l'étude du genre *Foeniculum vulgare* Mill. Plantes aromatiques et médicinales et leurs huiles essentielles. Actes. Ed. RABAT. (1997).
- (102) **MIRALDI E.** Comparaison of the essential oils from ten *Foeniculum vulgare* Mill. samples of fruits of different origin. Flavour and Fragrance Journal . (1999). V. 14. Issue 6. P.P. 379-380.
- (103) **RUBERTO G., BARATTA M.T., DEANS S.G., DORMAN H.J.D.** Antioxydant and Antimicrobial Activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* Essential oils. Planta Med. (2000). 66 : P.P. 687- 693.
- (104) **PICCAGLIA R., MAROTTI M.** Characterization of some italian types of wild Fennel (*Foeniculum vulgare* mill.) J. Agric.Food Chem. (2001). 49 :239-244.
- (105) **YAMINI Y., SEFIDKON F., POURMORTAZAVI S.M.** Comparaison of essential oil composition of Iranian fennel (*Foeniculum vulgare*) obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. Flavour and Fragrance Journal. (2002). V. 17. Issue 5. P.P. 345-348.

ANNEXES

ANNEXE I : DETERMINATION DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES.

1. Caractéristiques physiques

1.1. Densité relative :

Mode opératoire :

Nettoyer soigneusement puis rincer le pycnomètre, au moyen d'éthanol puis d'acétone et le sécher en faisant passer un courant d'air sec. Si nécessaire, essuyer l'extérieur du pycnomètre avec un chiffon sec ou un papier filtre.

- peser le pycnomètre avec de l'eau distillée à 20°C,
- peser le pycnomètre plein, muni de son bouchon, à 1 mg près,
- vider le pycnomètre, puis le rincer et le sécher,
- effectuer les mêmes opérations en remplaçant l'eau par l'huile essentielle.

1.2. Pouvoir rotatoire :

Matériel utilisé :

- Solvant (de préférence l'éthanol à 95% ou le tétrachlorure de carbone. Il est recommandé de vérifier que le solvant utilisé a un pouvoir rotatoire nul).
- eau distillée,
- polarimètre (de type Schmidt + haensh) réglé de façon à donner 0° et 180° avec l'eau,
- lampe.

1.3. Point de congélation :

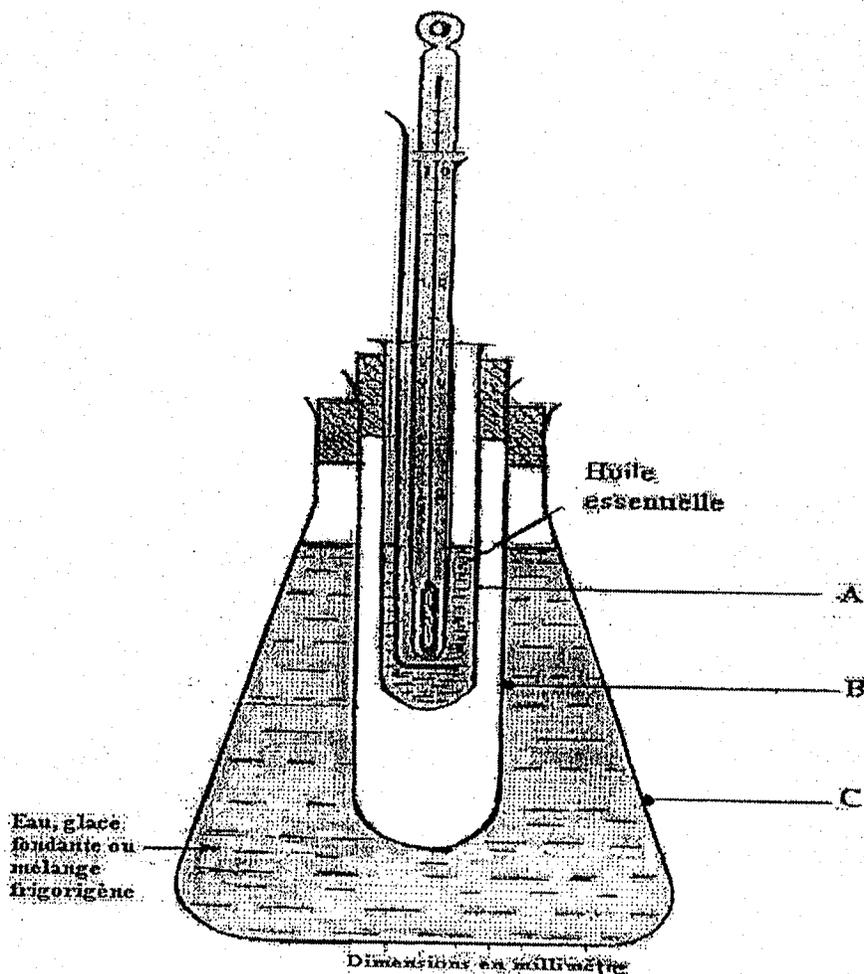
. Dispositif pour la détermination du point de congélation (voir schéma).

- Tube en verre (A) d'environ 20 mm de diamètre et 10 mm de longueur fixé par un bouchon en caoutchouc dans le tube (B),
- tube en verre (B) à paroi épaisse d'environ 30 mm de diamètre et de 125 mm de longueur fixé par un bouchon en caoutchouc dans un récipient (C).
- récipient © de 500 ml environ à large ouverture, destiné à recevoir le tube (B),
- agitateur annulaire,
- thermomètre.

. Mode opératoire :

- Refroidir quelques millilitres dans un tube à essai et agiter à l'aide d'un agitateur annulaire jusqu'à solidification,

- remplir le récipient (C) d'eau, de glace fondante ou d'un mélange frigorigène de manière à abaisser la température jusqu'à 5°C en dessous de celle notée lors de l'essai préliminaire. Assembler le tube (B) et le récipient (C),
- dans le tube (A), introduire 10 ml de l'huile essentielle à analyser, puis y placer le thermomètre et refroidir avec précaution jusqu'à la température notée lors de l'essai préliminaire. Introduire alors le tube (A) dans le tube (B) et attendre que la température se soit encore abaissée de 2°C ,
- amorcer la solidification avec une trace de l'huile essentielle utilisée au cours de l'essai préliminaire et agiter modérément à l'aide de l'agitateur annulaire en évitant que des particules adhèrent aux parois du tube,
- noter la température observée quand la courbe de température en fonction du temps présente un maximum ou un pallier et l'exprimer en degrés Celsius avec une décimale. Poursuivre la mesure jusqu'à ce que 2 résultats consécutifs ne diffèrent pas plus de $0,2^{\circ}\text{C}$.



Dispositif pour la détermination du point de congélation

1.4. Indice de réfraction :

Mode opératoire

Quelques gouttes d'huile essentielle sont déposées dans l'appareil et la lecture de l'indice de réfraction se fait comme suit :

On règle le réfractomètre de manière à obtenir une moitié supérieure claire et une autre moitié inférieure sombre et ce au niveau du cadran. L'appareil utilisé est de type Paralux optique de précision 68600 (Lustiner France).

1.5. Miscibilité à l'éthanol :

Mode opératoire :

- Introduire dans la fiole ou le tube à essai 1 ml d'huile essentielle,
- ajouter à l'aide de la burette, le mélange hydro-éthanolique de titre alcoolométrique déterminé, 95% par fraction de 0,1 ml jusqu'à miscibilité complète, en agitant énergiquement après chaque addition. Lorsque le mélange est parfaitement limpide, noter le volume du mélange hydro-éthanolique utilisé.

2. Caractéristiques chimiques :

2.1. Indice d'acide :

2.1.1. Matériel utilisé :

- Fiole de 100 ml,
- éprouvette de capacité de 5 ml,
- burette de capacité de 25 ml,
- balance analytique,
- ethanol à 95%,
- hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée, $C(\text{KOH})=0,1$ mole/l,
- indicateur coloré :
 - phénolphthaléine, solution à 2g/l dans de l'éthanol,
 - ou si l'huile essentielle à analyser renferme des constituants contenant des groupes phénoliques : rouge de phénol, solution à 0,4 g/l dans l'éthanol à 20%.

2.1.2. Mode opératoire

- Peser 2g d'huile essentielle et l'introduire dans la fiole,
- ajouter 5 ml d'éthanol et 5 gouttes de l'indicateur coloré,
- neutraliser le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium contenue dans la burette jusqu'à l'obtention d'une coloration rose qui ne persiste que quelques minutes avant de reprendre sa couleur initiale (jaune),
- préserver la fiole avec son contenu pour la détermination de l'indice d'ester.

2.2. Indice d'ester :

2.2.1. Matériel utilisé :

- Ethanol à 95%,
- hydroxyde de potassium, solution éthanolique titrée, $C(\text{KOH})=0,5 \text{ mole/l}$,
- acide chlorhydrique, solution titrée, $C(\text{HCL})=0,5 \text{ mole/l}$,
- indicateur coloré :
 - Phénolphthaléine à 2g/l
 - Rouge de phénol à 0,4 g/l dans l'éthanol à 20%.
- Fiole,
- éprouvette de capacité de 5 ml,
- balance analytique,
- burette de capacité de 25 ml,
- chauffe-ballon,
- pierre ponce, eau distillée.

2.2.2. Mode opératoire :

- Dans une fiole, introduire la prise d'essai (2g), ajouter 25 ml de la solution d'hydroxyde de potassium et des fragments de pierre ponce,
- adapter le réfrigérant et placer la fiole dans un chauffe-ballon. Le chauffage dure près d'une heure à partir de l'ébullition ; cette durée est suffisante pour permettre la libération des acides par l'hydrolyse des esters,
- laisser refroidir, démonter le réfrigérant et ajouter 20 ml d'eau puis 5 gouttes de l'indicateur coloré,
- parallèlement, on réalise la même expérience mais sans la prise d'essai (essai à blanc),
- titrer l'excès d'hydroxyde de potassium avec la solution d'acide chlorhydrique.

2.3. Indice de peroxyde :

2.3.1. Matériel et réactifs utilisés

- Balance analytique.
- Burette .
- Fioles
- Eprouvettes
- Pipettes
- Solution de thiosulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,01N
- Iodure de potassium (KI) hydraté
- Chloroforme
- Eau distillée.

2.3.2. Mode opératoire

Peser 2g d'huile dans un flacon, ajouter 10 ml de chloroforme et dissoudre ainsi la prise d'essai en agitant. Y ajouter ensuite 15 ml d'acide acétique puis 1 ml de la solution KI.

Boucher aussitôt le flacon et agiter pendant 1 mn. Laisser le flacon 5 mn exactement à l'abri de la lumière à une température d'environ 20°C.

Après ajout de 75 ml d'eau distillée titrer par la solution de thiosulfate l'iode libéré en agitant vigoureusement en présence de quelques gouttes d'empois d'amidon.

Un essai à blanc est effectué de la même façon.

ANNEXE 2 : EXAMEN PHYTOCHIMIQUE

1. Produit végétal épuisé avec l'éthanol :

Dans le ballon mono col, surmonté d'un réfrigérant, mettre 50 g de matériel végétal en présence de 300 ml d'éthanol. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. filtrer le mélange, ensuite soumettre l'extrait éthanolique aux tests suivants :

1.1. Alcaloïdes sels :

Deux essais ont été réalisés :

- Evaporer 20 ml de la solution éthanolique. Ajouter 5ml d'HCl (10%) au résidu et chauffer dans un bain-marie. Filtrer le mélange et l'alcaliniser avec quelques gouttes de solution de NH_4OH (10%) jusqu'à pH 9. Extraire la solution avec l'éther diéthylique, ensuite concentrer à sec. Dissoudre le résidu dans du HCl (2%).

Caractériser les alcaloïdes avec les réactifs de Mayer et de Wagner.

- Evaporer 20 ml de la solution éthanolique à sec. Ajouter 5 ml de HCN(2N) au résidu et chauffer dans un bain-marie. Filtrer le mélange puis diviser le filtrat en deux parties égales. Traiter la première avec quelques gouttes du réactif de Mayer et la seconde avec le réactif de Wagner.

Observation : présence de turbidité ou précipitation.

(+) est enregistré si le réactif produit une légère opacité ;

(++) est enregistré si le réactif produit une turbidité et non une floculation ;

(+++) est enregistré si le réactif produit une floculation ou un précipité lourd.

1.2. Flavonoides :

Traiter 5 ml d'extrait alcoolique avec quelques gouttes de HCl concentré et 0,5g de tournures de magnésium. La présence des flavonoides est mise en évidence si une couleur rose ou rouge se développe en l'espace de 3 mn.

1.3. Tanins :

A 1 ml de solution alcoolique, ajouter 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de FeCl_3 diluée. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleu-noire, verte ou bleue – verte et un précipité. Selon que les tanins sont catéchétiques, galliques ou éllagiques.

1.4. Composés réducteurs :

Deux essais ont été réalisés :

- Traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec 2 ml d'eau distillée et 20 gouttes de liqueur de Fechling puis chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge-brique.

- Traiter 1 ml de l'extrait éthanolique avec le réactif de Keller Kiliani. Un test positif est révélé par la formation d'un anneau brun – rouge et la solution acétique se colore lentement en bleu – vert.
- Pour les anthracénosides, coumarines et anthocyanosides nous avons procédé selon le processus suivant :
en premier lieu, prendre 25 ml de l'extrait éthanolique en présence de 15 ml de HCl (10%), porter à reflux pendant 30 mn. Refroidir la solution et l'extraire 3 fois avec 15 ml d'éther. Traiter les deux phases séparément.

1.5. Anthracénosides :

Traiter 8 ml de la solution extractive étherique par le réactif de Borntrager. Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vice variant de l'orangé – rouge ou violet – pourpre.

1.6. Coumarines :

Deux essais ont été réalisés :

- Evaporer 5 ml de la solution extractive étherique. Dissoudre le résidu dans 1 à 2 ml d'eau chaude. Diviser le volume en deux parties. Prendre le demi-volume comme témoin et ajouter à l'autre volume 0,5 ml de NH_4OH (10%). Mettre deux taches sur un papier filtre et les examiner sous la lumière U.V. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.
- Placer 1 g d'échantillon de la plante humide dans un tube à essai. Couvrir le tube avec un papier imbibé d'une solution de NaOH et le placer dans un bain-marie pendant quelques minutes. L'examen sous U.V. donne une fluorescence intense.

1.7. Anthocyanosides :

Doser la solution aqueuse acide avec une solution de NaOH. S'il y a un virage de couleur en fonction du pH, la présence des anthocyanosides est confirmée.

- $\text{pH} < 3$, la solution prend une coloration rouge.
- $4 < \text{pH} < 6$, la solution prend une coloration bleue.

1.8. Stérols et stéroïdes

Deux essais ont été effectués :

Evaporer 10 ml d'extrait alcoolique, traiter le résidu obtenu avec 10 ml de chloroforme anhydre puis filtrer. Mélanger 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique et ajouter quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter puis laisser reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 mn à 21°C).

Evaporer l'extrait alcoolique correspondant à 10 ml puis dissoudre le résidu obtenu dans 0,5 ml d'anhydride acétique et 0,5 ml de chloroforme. Traiter le filtrat avec le réactif

de Liebermann Burchardt. Si une solution bleue – verte apparaît, elle indique la présence des hétérosides.

2. Produit végétal épuisé avec de l'eau à chaud :

Dans un ballon surmonté d'un réfrigérant, mettre 50 g de racine en présence de 300 ml d'eau. Porter l'ensemble à reflux pendant 1h. Filtrer le mélange et soumettre l'extrait aqueux aux tests suivants :

2.1.. Amidon

Traiter 5 ml de la solution préparée avec le réactif d'amidon. L'apparition d'une coloration bleu violacée indique la présence d'amidon.

2.2. Composés réducteurs :

Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse 5 à 8 gouttes de liqueur de Fehling, chauffer la solution. Un précipité rouge brique marque la présence des hydrates de carbonnes.

2.3. Saponosides :

Ajouter à 2 ml de la solution aqueuse un peu d'eau et ensuite agiter d'une manière forte. Une écume persistante confirme la présence des saponosides. Abandonner le mélange pendant 20 mn et classifier la teneur en saponosides :

- pas de mousse = test négatif,
- mousse moins de 1 cm = test faiblement positif,
- mousse de 1-2 cm = test positif,
- mousse plus de 2 cm = test très positif.

2.4. Les tanins

Traiter 1 ml de la solution aqueuse avec 1 ml d'eau et 1 à 2 gouttes de solution diluée de $FeCl_3$; l'apparition d'une coloration vert-foncé ou bleu-verte indique la présence des tanins.

2.5. Alcaloïdes sels :

Mettre 15 ml de l'extrait aqueux dans un ballon bicol. Ajouter NH_4OH (10%) jusqu'à $pH=9$. Extraire avec 3 x 10 ml de chloroforme. Laver la solution chloroformique avec 3 x 2 ml de HCl (10%). La solution aqueuse de lavage est divisée en trois parties égales. Tester les échantillons avec les réactifs de Mayer et de Wagner. Le troisième tube est considéré comme témoin.

2.6. Anthraquinones :

Bouillir 1 mg d'échantillon de la plante pendant quelques minutes en présence de 10 ml de KOH 0,5 N auxquelles est ajouté 1 ml de H₂O₂ dilué à 5%. Refroidir le mélange, filtrer puis acidifier le filtrat avec l'acide acétique. Extraire la solution acide acétique. Extraire la solution acide obtenue avec 10 ml de benzène. Agiter l'extrait benzénique en présence de 5 ml de NH₄OH. Une réaction positive est révélée par la formation d'une couleur rouge au niveau de la couche alcaline.

3. Produit végétal épuisé avec l'éther diéthylique

Dans un ballon, surmonté d'un réfrigérant à reflux, 50 g de matière végétale sont portées à reflux dans 300 ml d'éther diéthylique et ce, pendant une heure. Le mélange filtré puis soumis aux différents tests suivants :

3.1. Terpènes – huiles volatiles :

Evaporer 20 ml de solution éthérique. Le résidu ainsi obtenu est dissout dans l'éthanol. La solution éthanolique obtenue est ensuite concentrée à sec.

Un test positif est révélé par l'obtention d'un résidu arôme.

Concernant le résidu, ce dernier est saponifié ; à la fin de la réaction ajouter un peu d'eau et extraire la solution avec l'éther diéthylique.

3.2. Stérols et stéroïdes

Concentrer la solution éthérique insaponifiable à sec. Traiter le résidu obtenu avec la réaction de Liebermann Burchardt. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration verte-violette ou verte-bleue.

3.3. Alcaloïdes bases

Evaporer 10 ml de la solution éthérique. Dissoudre le résidu obtenu dans 1,5 ml de HCl (2%). Ajouter à la solution aqueuse alcaline 1 à 2 gouttes du réactif de Mayer. La formation d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence des alcaloïdes bases.

3.4. Emodols :

Evaporer 3 ml de l'extrait éthérique. Dissoudre le résidu dans 1 ml de NH₄OH concentré. Ensuite traiter la solution avec la réaction de Borntrager.

Un test positif est révélé par l'apparition d'une teinte vive variant de l'orangé rouge au violet-pourpre.

Réactifs de caractérisation :**a- Alcaloïdes****. Réactif de Mayer :**

Dissoudre 1,358 g de HgCl_2 dans 60 ml d'eau. Dissoudre 5 g de KI dans 10 ml d'eau. Mélanger les deux solutions puis ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un trouble puis un précipité blanc.

. Réactif de Wagner :

Dissoudre 2 g de KI et 1,27 g de I_2 dans 75 ml d'eau. Ajuster le volume total à 100 ml d'eau. Les alcaloïdes donnent avec ce réactif un précipité brun.

b- Stérols et stéroïdes**. Réaction de Liebermann- Burchardt**

Mélanger 5 ml de solution à tester 5 ml d'anhydride acétique et quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. Agiter et laisser la solution reposer 30 min à 21°C. Les stéroïdes donnent avec cette réaction une coloration violacée fugace virant au vert. Aussi, cette réaction donne avec les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques respectivement les colorations verte-bleue et verte-violette.

c - Anthracénosides, anthraquinones et émодols**. Réaction de Borntrager :**

En milieu alcalin aqueux les composés donnent à la solution une teinte vive variant selon la structure et les substituants de la quinone, de l'orangé rouge au violet pourpre plus ou moins violacée.

d - composés réducteurs**.Liqueur de Fehling :**

La liqueur de Fehling est un mélange de deux solutions :

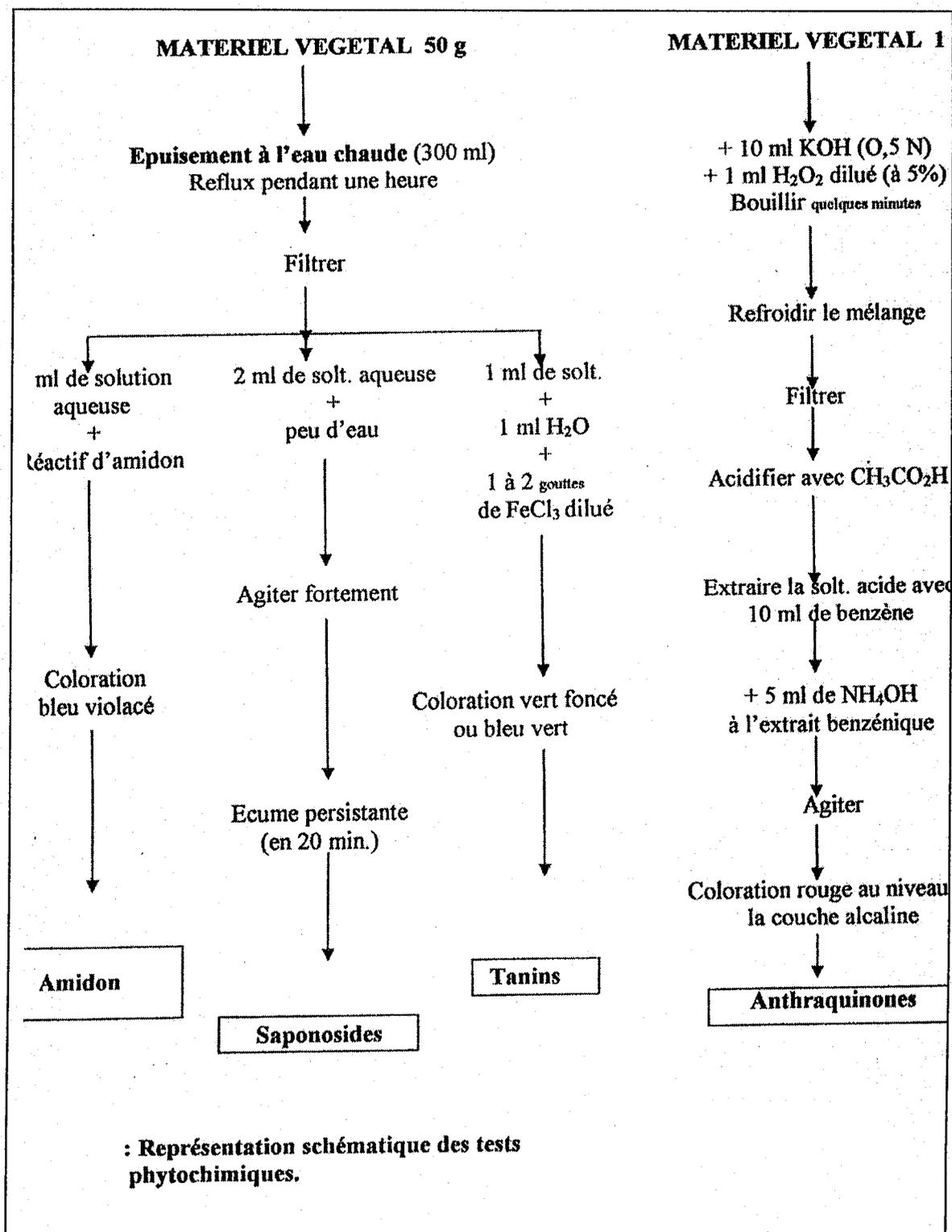
- Fehling A : dissoudre (x) g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 50 ml d'eau distillée.
- Fehling B : dissoudre 6,5 g de NaOH et 17,3 g de tartrate de sodium dans 35 ml d'eau distillée puis compléter le volume à 50 ml.
- Les composés réducteurs donnent avec ce réactif un précipité rouge brique.

. Réaction de Keller-Kiliani :

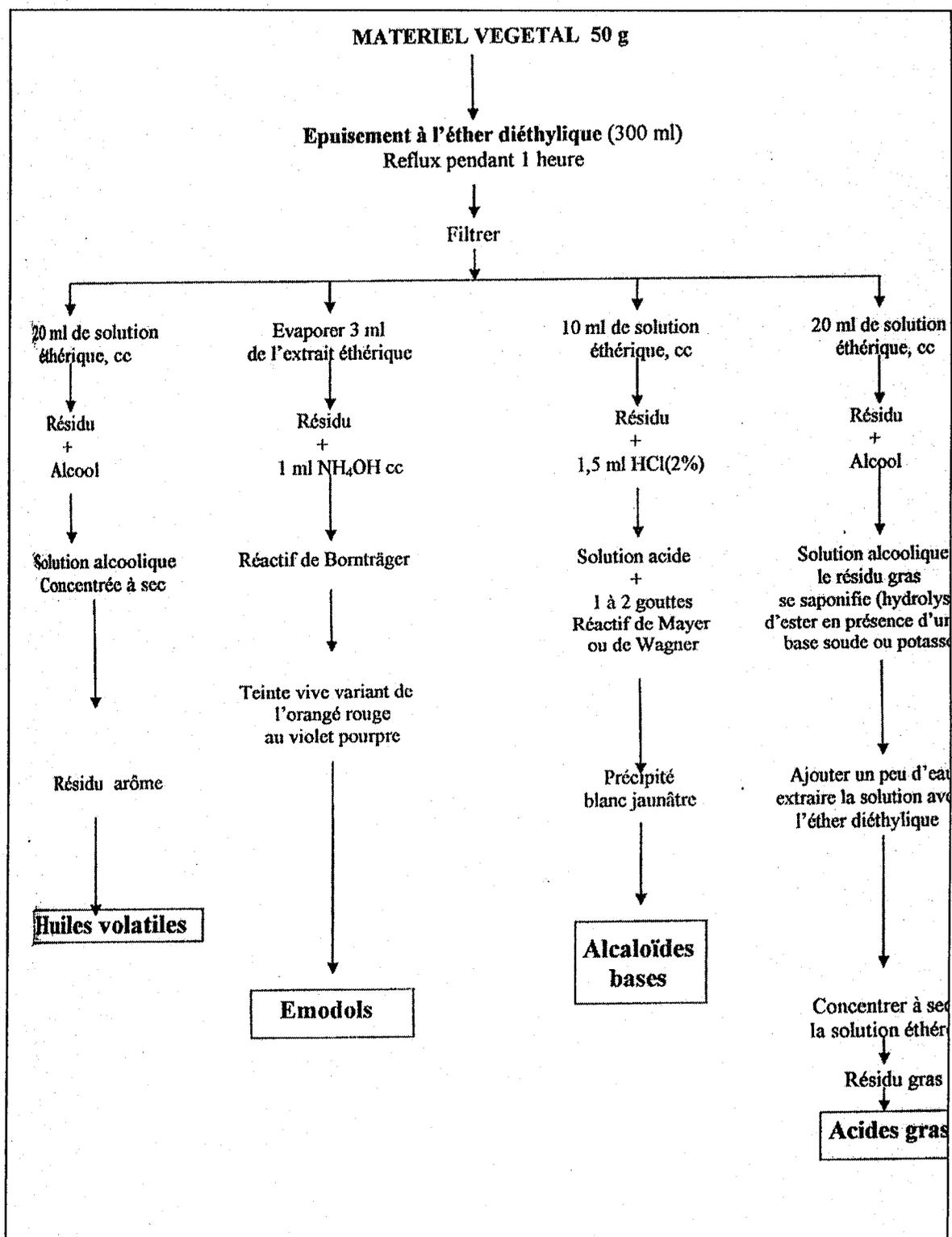
L'addition de 5 ml d'acide sulfurique concentré contenant des traces de sels ferriques à 5 ml d'une solution d'hétérosides dans acétique concentré contenant également des sels ferriques conduit à la formation d'un anneau brun-rouge. La solution acétique se colore lentement en bleu-vert.

e – Amidon**. Le réactif d'amidon**

Dissoudre 1,2 d'iode dans 50 ml d'eau distillée contenant 2,5 g d'iodure de potassium. Chauffer pendant 5 minutes. Diluer jusqu'à 500 ml. Chauffer ensuite 5 ml de la solution à tester avec 10 ml d'une solution de NaCl saturée dans un bain-marie jusqu'à ébullition. Ajouter le réactif d'amidon. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacée.



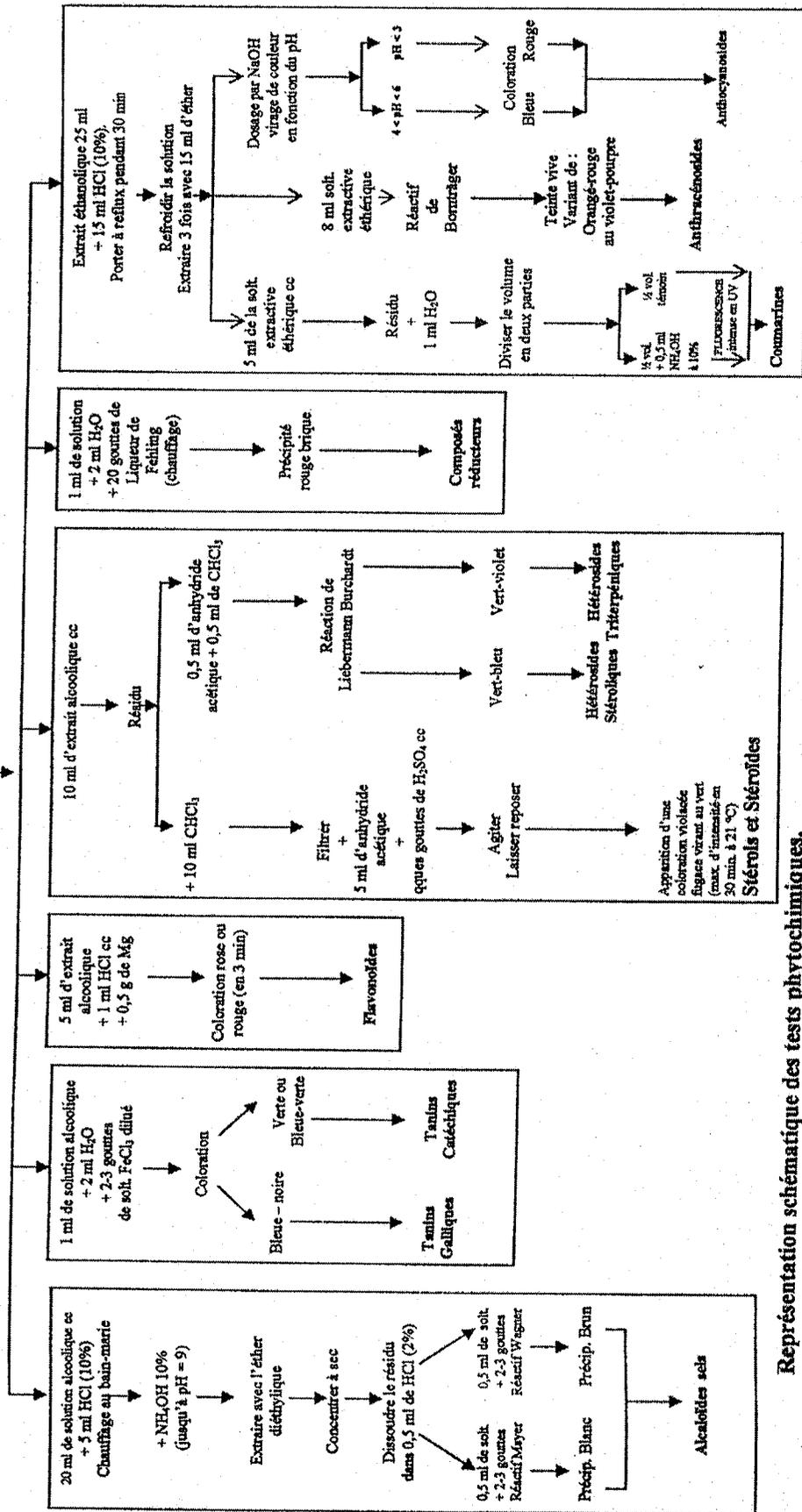
Représentation schématique des tests phytochimiques



Représentation schématique des tests phytochimiques

Matériel végétal 50 g
Epuisement l'éthanol (300 ml) ; reflux pendant 1 heure.

Filtration



Représentation schématique des tests phytochimiques.

PUBLICATION



Valeurs nutritives et toxicité du *foeniculum vulgare miller*

H. A. Lazouni*, A. Benmansour, D. Chabane Sari et M. Dj. E. Smahi

Département de biologie, Faculté des sciences, Université Aboubekr BELKAID,
B.P.119, 13000 Tlemcen, Algérie

(Reçu le 10 Octobre 2005, accepté le 19 Janvier 2006)

* Correspondance, courriel : hamadi_la@yahoo.fr

Résumé

Le *Foeniculum vulgare Mill.*, plante aromatique, spontanée et répandue en Algérie est très utilisée par les populations locales pour ses vertus médicinales.

Nos échantillons, provenant de l'ouest algérien, ont montré que les teneurs des principaux composés issus du métabolisme primaire et pour chacune des parties de la plante (graines, tiges et racines) sont intéressantes pour les protéines (17,5 %) et les lipides (12 %) et relativement faible pour les glucides (13 %). La présence de constituants toxiques provenant du métabolisme secondaire notamment les coumarines et les tanins, composés reconnus comme inhibant la digestibilité des protéines, influent sur l'évolution de la masse pondérale de l'animal (rat « Wistar »). Les saponosides, flavonoïdes, stérols et stéroïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, anthracénosides, anthocyanosides et émodols peu ou pas présents n'ont que peu d'influence sur les qualités de digestibilité de la plante.

Le taux en huile essentielle de 2,7 % pour la plante en floraison est intéressant et conforme à ceux obtenus par la littérature.

Mots-clés : *Foeniculum vulgare Mill.*, composition chimique, huile essentielle

Abstract

Food values and toxicity of the *foeniculum vulgare miller*

Foeniculum vulgare Mill. plant aromatic, spontaneous and wides pread in algeria is used by the population for its medicinal virtues.

Our samples, coming from the Algerian west, showed that the contents of the principal compounds resulting from the primary metabolism and for each part of the plant (soed, stem and roots) are interesting for proteins (17,5 %) and lipids (12 %) and relatively

weak for glucids (13 %). The presence of toxic components coming from the secondary metabolism in particular the coumarins and tanins, made up recognized like inhibiting the digestibility of proteins, influential on the evolution of the ponderal mass of the animal (rat "Wistar").

The saponosides, flavonoïdes, sterols and steroïdes, tanins, coumarins, alcaloïdes, anthracenosides, anthocyanosides and emodols with little or no presence, have only little influence on the digestibility qualities of the plant.

The output of 2,7 % in essential oil from the flowering plant is interesting and is in conformity with those obtained by the literature.

Keywords : *Foeniculum vulgare* Mill., chemical composition, essential oil

1. Introduction

Le fenouil, appartenant au genre *Foeniculum* et à l'espèce *Foeniculum vulgare* Mill. [1], est une plante originaire de l'est du bassin méditerranéen et de Caucasic [2]. Très utilisé pour ses vertus médicinales, il est de nos jours cultivé pour des usages industriels. C'est une plante à tige élevée (80 à 200 cm), ramifiée et à forte odeur d'anis [3,4].

Il est connu comme étant une plante aromatique, spontanée, abondante dans l'ouest algérien et s'adaptant bien aux sols argileux (*Photo 1*).

"Fenouil" en français, il est communément appelé "Besbes" par les populations locales. Ses huiles essentielles (H.E.) sont très utilisées par les industries pharmaceutique, cosmétique et alimentaire [5].

Le but de l'étude est d'estimer les valeurs nutritionnelles de la plante par ses composés lipidiques, protéiques et par ses glucides et également d'apprécier sa toxicité par les coumarines et les tanins. La qualité nutritionnelle est testée sur des rats de souche "Wistar".

La station d'étude, située sur le littoral à 50 kilomètres environ au nord de la ville de Tlemcen, fait partie de l'éco-complexe des monts de Traras et est caractérisée par une ambiance bioclimatique semi-aride à hiver tempéré où l'influence maritime est présente. Les formations végétales sont de type matorral dense sur des sols tantôt jeunes (rendzines) tantôt bruns et profonds [6].

2. Matériel et méthodes

2-1. Présentation et traitement de la plante

Le *Foeniculum vulgare* Mill. est une plante qu'on rencontre couramment aux abords des oueds et aux bords des chemins. C'est une grande ombellifère élégante et vivace aux

larges feuilles découpées en molles et minces lanières et aux petites feuilles jaunes groupées.

Le fenouil comprend plusieurs variétés sauvages aux fruits plus ou moins doux, poivrés ou amers et une variété cultivée très douce.



Photo 1 : Plante de *Foeniculum vulgare* Mill. mature

La plante est cueillie au mois de décembre et séchée à l'ombre pendant dix jours. Graines, tiges et racines sont ensuite séparées avant de subir les différentes analyses.

2-2. Composition chimique du fenouil

La détermination de la composition chimique totale est élaborée dans le respect des métabolismes primaire et secondaire pour le développement des plantes [7-11].

2-2-1. Teneurs en eau et en cendres (plante entière)

La teneur en eau est donnée par la méthode gravimétrique (détermination de la perte de poids par dessiccation). La teneur en cendres est obtenue suite à une calcination de l'échantillon végétal dans un four à moufle à 550 °C pendant deux heures. Le taux moyen de la quantité de cendres est déterminé par différence de poids.

2-2-2. Composés appartenant au métabolisme primaire (plante entière)

La teneur en protéines est déterminée par la méthode de Kjeldhal [12]. Les lipides sont estimés par l'extraction à l'appareil de Soxhlet utilisant l'hexane comme solvant. Le taux des sucres est obtenu par la méthode phénol / acide sulfurique citée par Dubois et al. [13] ; la cellulose brute par la méthode de Henenberg et Stoma [14].

2-2-3. Composés appartenant au métabolisme secondaire

Les trois parties de la plante (graines, tiges et racines) sont séchées et finement broyées. L'extraction des différentes familles de composés chimiques nécessite l'utilisation de trois solvants de polarité différente (eau, éthanol et éther diéthylique).

Les saponosides, stérols et stéroïdes, flavonoïdes, tanins, coumarines, alcaloïdes, anthracénosydes, anthocyanosides et les émodols sont révélés selon les tests phytochimiques qualitatifs décrits par les méthodes de Fachmann et Kraut [15] et Withil et Anton [16].

L'huile essentielle ou huile volatile est obtenue par distillation à la vapeur d'eau selon le principe décrit par Belâiche [17] et Padrini [18]. Nous avons utilisé un montage élaboré dans notre laboratoire [19] qui présente l'avantage de fonctionner en continu avec un minimum d'eau et qui permet également d'optimiser le temps d'extraction.

2-3. Analyses physique et chimique de l'huile essentielle du fenouil

2-3-1. Indices physiques

Les méthodes conformes aux normes A.F.N.O.R. [20] ont permis de déterminer la densité spécifique à 20 °C (NFT 75-111), l'indice de réfraction (NFT 75-112) le pouvoir rotatoire (NFT 75-113) et la miscibilité à l'éthanol (NFT 75-101).

2-3-2. Indices chimiques

Les méthodes utilisées pour la détermination des indices d'acide (NFT 75-103) et d'ester (NFT 75-104) sont également conformes aux normes A.F.N.O.R. [20].

3. Résultats et discussion

3-1. Composition chimique de la plante

3-1-1. Teneurs en eau et en cendres

Les teneurs en eau et en cendres sont respectivement de 76,5 % et 6 %.

3-1-2. Composés appartenant au métabolisme primaire

Les teneurs en sucre, cellulose, lipides et protéines sont regroupées dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : Valeurs des teneurs en composés appartenant au métabolisme primaire

| Composés | Poids sec (%) | Valeurs de la littérature | Références |
|-----------|---------------|---------------------------|------------|
| Glucides | 13 | 23 | [11] |
| Cellulose | 40 | 27,50 | [11] |
| Lipides | 12 | 20 | [12] |
| Protéine | 17,50 | 20 | [12] |

3-1-3. Composés appartenant au métabolisme secondaire

Les tests phytochimiques qualitatifs ont permis de révéler neuf familles de composés chimiques qui sont présentées dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Constituants issus de la graine, de la tige et des racines

| Epuisement à Famille de composés | Graine | Tige | Racine | Graine | Tige | Racine | Graine | Tige | Racine | Résul- tats |
|--|---------|------|--------|--------|------|--------|--------|------|--------|----------------|
| | Ethanol | | | Eau | | | Ether | | | |
| Saponosides | | | | ++ | + | ++ | | | | Pré- sence |
| Stérol et stéroïdes | - | + | - | | | | + | + | + | |
| Huiles volatiles | | | | | | | +++ | ++ | + | |
| Flavonoïdes | +++ | + | - | | | | | | | |
| Tanins | ++ | + | - | ++ | +++ | - | | - | - | |
| Coumarines | +++ | ++ | - | | | | | | | |
| Alcaloïdes | - | - | - | | | | - | - | - | Ab- sence |
| Anthracénosides | - | - | - | | | | | | | |
| Anthocyanosides | - | - | - | | | | | | | |
| Emodol | | | | | | | - | - | - | |

3-2. Analyses physique et chimique de l'huile essentielle

Le rendement en huile essentielle obtenu est de 2,15 % (*Tableau 3*)

Tableau 3 : Rendements en huile essentielle de la littérature [21]

| Origine | France | Inde | Japon |
|----------------|--------|------|-------|
| Rendements (%) | 2,1 | 0,72 | 2,7 |

Les caractéristiques physiques et chimiques sont regroupées dans le *Tableau 4*.

Tableau 4 : Caractéristiques physiques et chimiques de l'huile essentielle de *Foeniculum vulgare* Mill.

| Indices | Résultats | Valeurs données par la littérature | Référence |
|--------------------------------|-----------|------------------------------------|-----------|
| Densité spécifique à 20°C | 0,895 | 0,879 - 0,978 | [18] |
| Indice de réfraction à 20°C | 1,6896 | - | |
| Pouvoir rotatoire | +78,21° |] +6 , +24[° | [18] |
| Miscibilité à l'éthanol à 90°C | 1V : 3V | | |
| Point de congélation | < -20°C | | |
| Indice d'acide | 0,90 | - | - |
| Indice d'ester | 77,95 | | |

Les teneurs des principaux composés issus du métabolisme primaire (*Tableau 1*) montrent des taux intéressants en protéines (17,5 %) et en lipides (12 %) pour assurer une bonne croissance pondérale du rat « Wistar ». Par contre, la teneur en glucides (13 %) est relativement faible et ne permet pas d'assurer une bonne valeur énergétique du développement de l'animal.

Quatre familles de substances plus ou moins toxiques (alcaloïdes, anthracénosides, anthocyanosides et émodols) sont totalement absentes, ce qui favorise le degré de digestibilité de la plante chez l'animal. La présence de flavonoïdes et de saponosides, composés connus pour leurs effets thérapeutiques même s'ils sont toxiques à de fortes proportions, est peu marquée. Les taux de tanins et de coumarines relativement importants, agissent sur la digestibilité des protéines et peuvent par conséquent inhiber le rendement nutritionnel (*Tableau 2*).

La valeur du rendement en huile essentielle pour la plante mature (cueillie au mois de décembre) et séchée est de 2,15 %. Cette valeur est intéressante comparée à celles

données par la bibliographie [21] (**Tableau 3**).

La densité spécifique à 20 °C est comparable à celle donnée par la littérature. Le pouvoir rotatoire dextrogyre est plus important que ceux cités par la bibliographie (**Tableau 4**) [22].

L'indice d'acide est comparable à celui du romarin, de la lavande de France, de la *Mentha arvensis* et du *Lavandin abrialis*. L'indice d'ester se rapproche de ceux du *Lavandin abrialis*, du géranium et de la bergamote [20].

4. Conclusion

Bien que la teneur en glucides relativement faible (13 %) ne permet pas d'assurer une bonne valeur énergétique pour le développement du rat, les teneurs en protéines (17,5 %) et en lipides (12 %) sont intéressantes.

L'absence totale d'alcaloïdes, d'enthracénosides, d'anthocyanosides et d'émodols, composés plus ou moins toxiques, favorisent le degré de digestibilité de la plante chez le rat. La présence peu marquée des flavonoïdes et des saponosides rend la toxicité de la plante sans grand effet. Les tanins et les coumarines fortement présents ont une action inhibitrice sur le rendement nutritionnel.

Le rendement appréciable en huile essentielle (2,15 %) confère à la plante un intérêt d'utilisation dans les industries pharmaceutique, cosmétique et alimentaire [5].

Références

- [1] - G. VOGEL, H. ANGERMANN « *Atlas de la biologie* ». Encyclopédie d'aujourd'hui, la photothèque. Librairie générale française. 1984-1994. Deutscher Taschenbuch Verlag GmbH et HG. Munich (1998) 1984 – 1994
- [2] - M. MAROTTI, V. DELLACECCA, R. PICCAGLIA, E. GIOVANELLI « *Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* mill.* ». ACTA Horticulturae 331. WOCMAP, Italy (1993) 63
- [3] - P. QUEZEL, S. SANTA « *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* ». Ed. C.N.R.S., Tome II, Paris (1963) 671
- [4] - G. GARNIER, D.L. BEZANGER, G. DEBRAUX « *Ressources médicinales de la flore française* ». Ed. Vigot frères, Tome II, Paris VI (1961) 900-902
- [5] - V. FORMACEK, K.H. KUBECZKA « *Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy* », John Wiley and sons, New York. (ALNAP Database ref. : ID. (1982) 171

- [6] - ALCARAZ « *La tetraclinaie sur terre rosa en sous étage sub-humide inférieur chaud en Oranie (ouest algérien)* ». *Ecologia Méditerranéa*, IX (2) (1983) 110-131
- [7] - S. ROBERT « *Chimie d'appoint, CHM-1010* ». Section chimie organique. Département de chimie-biologie. Centre de recherche en pâte et papiers. Université du Québec à Trois-rivières. (2000). *Neth. Milk Dairy*, 44. (1989) 33 — 42
- [8] - J. BRUNETON « *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales* », 3^{ème} édition. Ed. Tec et Doc. Paris (1999) 175 — 177
- [9] - P. VAN GANSEN, H. ALEXANDRE « *Biologie générale* », 4^{ème} édition. Ed. Masson, Paris. (1997) 97 — 99
- [10] - A. NAHRSTED, V. BUTTERWECK « *Biologically active and other chemical constituents of the herbe of hypercium perforatum* ». *L-Pharmacopsychiat.*, 30 (suppl) (1997) 129 — 134
- [11] - E. MIDDLETON and al. « *Pharmacological review* », vol 52, N° 4 (2000) 673 — 751
- [12] - J. KJELDHAL « *Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffs in organischem Korpon* ». *Z. Anal. Chem.* Vol. 22 (1883) 366 — 382
- [13] - M.K.A. DUBOIS, Y.K. GILLES, P.A. HAMILTON « *colometric method for determination of sugars and related substance* ». *Anal. and Chem. Jour.* Vol. 28. (1956) 350 — 356
- [14] - P. HENENBERG, A. STOMA « *Méthodes chimiques pour l'analyse de fourrage* ». Ed. Sofia (1971) 75
- [15] - FACHMANN and KRAUT « *Composition des aliments d'après le répertoire général des aliments* ». Regal. Ed. Log Access. APRIFEL. (1995) 243
- [16] - M. WITHIL, R. ANTON « *Plantes thérapeutiques. Traditions, pratique officinale. Science et thérapeutique* », 3^{ème} Ed. Tec. Doc. (1999) 189 — 190
- [17] - P. BELAICHE « *Traité de phytothérapie et d'aromathérapie* ». Tome I, l'aromatogramme. Ed. Maloine, Paris. (1979) 137 -147
- [18] - F. PADRINI, M.T. LUCHERONI « *La nature des huiles essentielles* ». Ed. Dexecchi. (1997) 343 — 345
- [19] - A. BENMANSOUR « *Etude et valorisation de l'armoise blanche de l'ouest algérien et des noyaux de dattes algériennes* ». Thèse de Doctorat es-sciences physiques. Université ABOUBEKR Belkaid, Tlemcen. (1999) 29-30
- [20] - A.F.N.O.R. (Association française de normalisation). « *Recueil des normes françaises « Les huiles essentielles* ». Ed. A.F.N.O.R., Tour Europe, 2^{ème} Ed. Paris. (1986)
- [21] - M. GRIEVE « *Modern herbal* ». Ed. Electric Newt. (1995) 101 — 105
- [22] - G. GARNIE, L. BEZANGER-BEAUQUESNE, G. DEBRAUX « *Ressources médicinales de la flore française* », Tome II, Ed. Vigot frères. (1961) 98 — 104