

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجبالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de Technologie



Mémoire de fin d'études
*En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en Génie des Procédés*
Spécialité: Génie des Procédés Pharmaceutiques

Thème :

***Notions théoriques et travaux antérieurs sur la plante
d'*Anethum graveolens* (Aneth)***

Devant le jury composé de :

- | | |
|-----------------------------|--------------|
| - Mr. HACHAMA K. | Examineur |
| - M ^{me} OUADAH L. | Examinatrice |
| - M ^{me} ALICHE Z. | Encadrant |

Présenté par :

M^{elle} SANDJAK DINE Souhila

M^{elle} NEDJMAOUI Djamila

Année universitaire : 2019 / 2020

dédicaces

Je dédie ce mémoire de master à mes parents ,dont le soutien a été essentiel tout au long de mes études du primaire à l'université ,et tout particulièrement au cours de ce travail de recherche

Et a mon cher marie walid qui m'a toujours encouragé

A ma sœur: sabrina et son fils iyad ,A mes frères adorés :mouhamed ,et el mahdi

A tous les membres de la famille et A toutes mes amies qui m'ont aidée de près ou de loin Et à tous mes enseignants

A tous ceux qui me sont chers

****souhila****

dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents que Dieu me les garde

Ames frère et mes sœurs, hadjer, hanane, ismahane

A mon mari Mohamed

A mon grand père

A toute ma famille nedjmaoui

A mes amis et mes collègues de la promotion

A toute personne qui me connais

djamila

REMERCIEMENTS

Nous remercions avant tout, le Dieu tout puissant de nous avoir gardés en bonne santé afin de bien mener ce projet de fin d'étude.

Nous tenons tout d'abord à remercier très vivement les membres de jury d'avoir voulu examiner ce modeste travail théorique, en l'occurrence Mr Hachama K. et Mme Ouadah I.

Nous exprimons toutes nos profondes reconnaissances à notre promotrice Mme Aliche Zahia, qui nous a témoigné sa confiance et son aide scientifique durant la réalisation de ce mémoire.

C'est avec un énorme plaisir que nous présentons notre reconnaissance et gratitude à tout les enseignants et enseignantes du département de Génie des Procédés de l'Université de Khemis Miliana.

Nous tenons enfin à remercier toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin dans notre cursus universitaire.

ملخص

الشبت (الخيميات) نبات عشبي متواجد بكثرة في الجزائر ، يستخدم في الطبخ وفي طب الأعشاب في حالة اضطرابات الجهاز الهضمي والمغص لحدوث الولادة. وهو معروف بتأثيراته المضادة للبكتيريا ، ومضادة لفرط شحوم الدم ، ومضادة لفرط كوليسترول الدم. يتم الحصول على الزيوت المستخلصة للشبت عامة عن طريق التقطير المائي بواسطة كليفنجر. يحتوي على مركبات بنسب متغيرة مثل: الكارفون و الديلابيود و الترونس ديهيدروكارفون و الليمونان و السيس ديهيدروكارفون و السيس كارفيول و الترونس كارفيول... إلخ. حسب المراجع السابقة ، يتم استخدام الزيوت المستخلصة للشبت كمادة حافظة أثناء تخزين الفواكه والخضروات ، خاصةً ضد فطريات اسبارجيلوس و الترناريا. تناول مغلي بذور الشبت يساعد على زيادة عدد الانقباضات وتقليل مدة المرحلة الأولى من المخاض أثناء الولادة. تأثير ناتج عن وجود التانين والليمونين في الشبت. كيميائياً ، تؤثر تقنية التقطير المائي على كمية الزيت و مكوناتها وحركية التقطير. يتم الحصول على مردود أفضل عندما يتم دمج الماء العذب مع الماء المصفى من البذور بعد التقطير المائي. تم اقتراح نماذج رياضية لحركية التقطير نموذج بونوماريف ونموذج الانتشار غير الثابت. خاصية أخرى للشبت هي نشاطه المضاد للسرطان. يعتمد التأثير السام للخلايا على تركيز الزيت ضد الخلايا السرطانية. سبب هذه الخاصية هو وجود كارفون و ليمونين في زيت الشبت. الشبت نبات غني يستحق الدراسة.

Résumé

L'aneth, *Anethum graveolens* L. (Apiacées) est une plante herbacée très abondante en Algérie, utilisée en cuisine et en phytothérapie en cas de troubles digestifs et coliques néonatales. Elle est connue par ses effets antibactériens, anti-hyperlipidémiques, et anti-hypercholestérolémiques. L'huile essentielle (HE) d'aneth est généralement obtenue par hydrodistillation par Clevenger. Elle contient des composés à des proportions variables tels que : carvone, dillapiole, trans-dihydrocarvone, limonène, cis-dihydrocarvone, cis-carvéol et transcarvéol ...etc. D'après la revue de la littérature, l'huile essentielle d'aneth est utilisée comme conservateur lors du stockage des fruits et légumes, en particulier contre les *Aspergillus et Alternaria*. En clinique, l'infusion de graines d'aneth provoque une augmentation du nombre de contractions et une réduction de la durée du premier stade du travail lors de l'accouchement. Un effet causé par la présence des tanins et le limonène dans l'aneth. Chimiquement, la technique d'hydrodistillation influe sur la quantité d'HE, la composition et la cinétique de l'extraction. Un rendement meilleur est obtenu lors de la combinaison de l'eau fraîche avec l'eau filtrée des graines après hydrodistillation. La cinétique d'hydrodistillation est présentée mathématiquement par le modèle de Ponomarev et le modèle de diffusion non stationnaire. Une autre propriété de l'aneth est son activité anticancéreuse. L'effet cytotoxique dépend de la concentration de l'huile essentielle d'*A. graveolens* contre les cellules cancéreuses. Les réponses cytotoxiques observées sont attribués à la présence de carvone et du limonène. L'aneth est une plante riche qui mérite d'être étudié.

Abstract

Anethum graveolens L. (Umbelliferae) commonly known as dill, is a medicinal herb very abundant in Algeria, used for food and in traditional medicine for digestive disorder and infantile colic. It is known by its pharmacological properties, such as antibacterial activity, antihyperlipidemic and antihypercholesterolemic effects. Essential oil (EO) is obtained by hydrodistillation. It's a mixture of different percentages of components: carvone, dillapiole, trans-dihydrocarvone, limonene, cis-

dihydrocarvone, cis-carveol transcarveol ...etc. According to the literature, the essential oil of dill could be used to control food spoilage as a potential source of food preservative, especially against *Aspergillus* and *Alternaria*. Another study investigated the effect of boiled dill seeds on pain intensity and duration of labor stages. Taking boiled *Anethum graveolens* seeds is an effective way in the progress of labor stages for pregnant women in delivery. This effect is caused by the presence of tanin and limonen. The yield, composition and kinetic of the hydrodistillation are influenced by the used technique. The highest oil yield, was achieved by the utilization of filtrated (from plant material) water used in the previous hydrodistillation run plus newly added water. Two kinetic models were proposed; Ponomarev and non stationary diffusion model. The cytotoxic activity of dill seeds was confirmed. The EO decrease the cell viability and inhibit the tumoral cell growth. The anticancer potential of dill EO is attributed to the presence of carvone and limonene. Dill could be considered as a new agent for the management of hepatocellular carcinoma. Dill is a rich plant that deserves to be studied.

Liste des abréviations et symboles

AAPH	2,2'-azobis (2amidinopropane) dihydrochloride
AG	<i>Anethum graveolens</i>
AFNOR	Agence Française de Normalisation
c-à-d	c'est à dire
CG/SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse
cm	centimètre
CLHP	Chromatographie liquide à haute performance
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CO ₂	dioxyde de carbone
CPG	Chromatographie en phase gazeuse
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EC50	la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale de DPPH
Ed.	Edition
EUFe	l'efficacité d'utilisation du fer des pousses
ev	électron volt
Fe	Fer
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
g.	graveolens
g	gramme
HCl	Acide chlorhydrique
HE	Huile essentielle
Ia	Indice d'acidité
Ie	Indice d'ester
Is	Indice de saponification
Ir	indices de rétention
KOH	Hydroxyde de Potassium
m	mètre
ml	millilitre

mm	millimètre
m/q	masse/charge électrique
nm	nanomètre
p.	page
P.A.M	plantes aromatiques et médicinales
pH	Potentiel d'hydrogène
SM	Spectrométrie de Masse
TPTZ-Fe ³	tripyridyltriazine ferrique
TPTZ-Fe ²	tripyridyltriazine ferreux
%	pourcentage
μl	microlitre
°C	celsius

Liste des figures

Figure I.1. Appareillage pour une CPG.....	7
Figure I.2. Appareillage utilise pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur.....	9
Figure I.3. Les différents types d'extraction par solvant volatile.....	10
Figure I.4. Procédé d'extraction au CO ₂ supercritique.....	11
Figure I.5. Procédé d'hydro distillation sous micro-ondes.....	12
Figure I.6. Appareillage utilise pour l'hydrodistillation de l'huile (Clevenger).....	12
Figure I.7. L'extraction par hydro-diffusion.....	13
Figure I.8. Forme libre et réduite du DPPH.....	17
Figure I.9. Technique de l'aromatogramme.....	20
Figure II.1. Aspect morphologique de la plante <i>Anethum.g</i>	25

Table des matières

Dédicaces.....	I
Remerciements.....	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations et symboles.....	IV
Liste des figures.....	V
Table des matières.....	VI
Introduction Générale.....	1

Chapitre I : Les huiles essentielles

Introduction.....	2
I.1. Historique des l'huiles essentielles	3
I.2. Définition des HE	3
I.3.Facteurs de variabilité des Huiles essentielles	3
I.3.1. Origine botanique	4
I.3.2. L'organe producteur	4
I.3.3. Origine géographique	4
I.3.4. Conservation des plantes	4
I.4. Caractérisations des huiles essentielles	4
I.4.1. Caractéristiques organoleptiques	5
I.4.2. Propriétés physico-chimiques	6
I.4.3. Analyse physico-chimique des huiles essentielles	7
I.5. Techniques d'extraction des huiles essentielle	11
I.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau	11
I.5.2. Extraction par solvant organique.....	11
I.5.3. Extraction au gaz co2 supercritique	12

I.5.4. L'extraction sans solvant assisté par micro-onde	13
I.5.5. Hydro distillation	14
II.5.6. L'hydrodiffusion	15
1.6. Composition chimique des huiles.....	15
I.6.1. Terpènes	16
I.6.2. Composés aromatiques	16
I.6.3. Composés d'origines diverses	16
I.7. Action biologique, effets thérapeutiques	16
I.7.1. Des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques.....	17
I.7.2. Des propriétés antivirales	17
I.7.3. Des propriétés anti-inflammatoires	17
I.7.4. Des propriétés cicatrisantes	17
I.7.5. Des propriétés circulatoires	18
I.7.6. Des propriétés digestives	18
I.7.7. Des propriétés antiparasitaires	18
I.7.8. Des propriétés de régulation métabolique	18
I.7.9. Des propriétés antispasmodiques	18
I.7.10. Des propriétés désodorisantes et purifiantes	18
I.8. Evaluation de quelques activités biologiques	19
I.8.1. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydant	19
I.8.2. Techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne	21
I.9. Domaines d'utilisation des huiles essentielles	23
I.9.1. Dans l'industrie agroalimentaire	23
I.9.2. En parfumerie et cosmétique	23
I.9.3. En pharmacie	24

Conclusion	25
------------------	----

Chapitre II : Présentation de la Plante et Revue de la Littérature

Introduction	23
II.1. Présentation de la plante médicinale <i>Anethum g</i>	23
II.1.1. Définition:.....	23
II.1.2. Répartition géographique	24
II.1.3. Description de la plante.....	24
II.1.4. La classification phylogénétique.....	24
II.1.5. Principaux constituants.....	25
II.1.6. Propriétés/indications.....	26
II.1.7. Utilisation en médecine traditionnelle.....	26
II.2. Revue de la littérature	27
II.2.1. Huiles essentielles des espèces d'Aneth <i>Anethum graoens, L. (Umbelliferaer d'Alberta)</i>	27
II.2.2. L'activité in vitro et in vivo de l'huile essentielle d'aneth contre la détérioration fongique de tomate cerise	27
II.2.3. Un essai clinique randomisé sur l'efficacité de l'application d'un protocole simple de graines d' <i>Anethum graveolens</i> bouillies sur l'intensité de la douleur et la durée des stades du travail.....	28
II.2. 4. Le rendement, la composition et la cinétique d'hydrodistillation de l'huile essentielle de graines d'aneth obtenue par différentes techniques d'hydrodistillation	29
II.2.5. Variation de la composition en polyphénols, les propriétés antioxydantes et physiologiques de l'aneth (<i>Anethum graveolens L.</i>) sous la carence induit en fer par le bicarbonate :.....	30
II.2.6. Évaluation de la cytotoxicité, de l'arrêt du cycle cellulaire et de l'apoptose induites par l'huile essentielle d' <i>Anethum graveolens L.</i> dans le cas de carcinome hépatocellulaire chez l'être humain :.....	31
Conclusion.....	31
Conclusion générale	34
Références bibliographiques	VII

Introduction Générale

La vie de l'homme depuis l'antiquité était étroitement liée à l'existence des plantes dans son environnement. Toutes les anciennes civilisations utilisaient les plantes pour soulager les douleurs ou pour des fins cosmétiques. La chimie a largement contribué dans le développement des médicaments en isolant plusieurs molécules bioactives qui sont par la suite utilisées en phytothérapie. Ces molécules se trouvent généralement dans les métabolites secondaires qui sont accumulés dans plusieurs parties de la plantes ; à savoir la peau, les racines, les feuilles, les tiges, les fruits, les graines et les fleurs.

Parmi les plantes abondantes et connues depuis l'antiquité l'aneth, *Anethum graveolens L.* Echabeth de la famille des ombellifères. Une plante largement utilisée pour aromatiser les aliments et les boissons en raison de son agréable arôme épicé [1]. Dans la médecine traditionnelle, les graines d'aneth était utilisée pour traiter la jaunisse, rhumatisme et la goutte. L'aneth est actuellement connu pour ses propriétés anti-oxydantes, anti-diabétiques, anti-cancéreuses, diurétiques, anti-hypercholestérolémiques, anti-inflammatoires, analgésiques, antibactériennes ...etc. [1]. Plusieurs parties de la plante sont utilisées qui renferment plusieurs molécules ou classes de produits à intérêt thérapeutique.

L'objectif principal de ce travail est, d'une part, la présentation de quelques notions théoriques sur les plantes médicinales, d'autre part, une recherche bibliographique sur la plante médicinale aneth.

Le document comporte deux chapitres :

Le premier chapitre comporte des généralités sur les plantes médicinales : définitions, propriétés, méthodes d'extraction, activité biologiqueetc.

Le deuxième chapitre est devisé en deux parties : la première est consacrée à la présentation de la plante. La deuxième partie est une revue de la littérature dans laquelle quelques travaux antérieurs sur l'aneth sont présentés.

Le document est clôturé par une conclusion.

Chapitre I: Les huiles essentielles

Introduction

Depuis les temps les plus reculés, l'homme a eu recours aux plantes non seulement pour se nourrir, se vêtir, se parfumer, se chauffer,.....mais également pour se soigner

En effet, les plantes renferment des substances chimiques de structure, de rôle et d'utilisations variées qui font partie des constituants du métabolisme primaire et ceux du métabolisme secondaire qu'on appelle principes actifs

Les huiles essentielles ou essence végétales extraites des plantes comptent parmi les plus importants de ces principes actifs, à raison de leurs multiples et diverses applications [2].

I.1. Historique des huiles essentielles :

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales «P.A.M.» est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles H.E datent de l'an 3000 avant J.C [3] Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

En Egypte, l'utilisation de baumes et résines aromatiques remonte à l'époque des pharaons : embaumement, momification et divers autres usages. Les grands prêtres et médecins égyptiens ont transcrit leurs connaissances sur des papyrus et leur savoir, a constitué le fondement de l'aromathérapie. Les connaissances égyptiennes ont été diffusées par les médecins grecs de la Rome Antique et par Hippocrate. L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques [3].

Dans l'histoire moderne, les vertus thérapeutiques des huiles essentielles occupent une place de plus en plus importante. En 1928 le chimiste français René-Maurice Gatte fosse a utilisé le terme aromathérapie pour décrire les propriétés curatives des huiles essentielles lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brûlure à sa main. En 1964 le docteur français Jean Valunet a connu du succès en traitant des patients en médecine et en psychiatrie. Aujourd'hui, nous reconnaissons que les huiles essentielles ont des effets pharmacologiques, psychologiques et physiologiques sur l'homme [4].

I.2. Définition des HEs :

Une huile essentielle ou « essence végétale » est l'essence volatile extraite de la plante par distillation. Il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie. Les HE combinent des molécules très variées (en moyenne une centaine de molécules différentes pour une seule essence : terpènes, cétones, alcools, esters, aldéhydes...) [5].

Elles sont obtenues par distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec ou extraction mécanique. Dans ce dernier cas, une certaine ambiguïté existe sur la dénomination d'huile essentielle. Selon l'AFNOR, il faut utiliser le terme d'essence alors que la Pharmacopée française et la Pharmacopée européenne utilisent le terme d'huile essentielle. Le terme d'huile essentielle a été retenu par les spécialistes en pharmacognosie [5].

I.3. Facteurs de variabilité des Huiles essentielle :

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce, ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes. Le mot chémotype est dérivé de chimiotype ou chimiovariété. Cette variation peut être due à des nombreux facteurs, dont nous citons les plus importants :

I.3.1. Origine botanique :

La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique, par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclarée (*Salvia sclarea*), qui peuvent être vendues toutes les deux sous l'appellation d'essence de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptiques [6].

I.3.2. L'organe producteur :

La composition et le rendement d'une H.E varient selon la partie de la plante à partir de laquelle est extraite [7].

I.3.3. Origine géographique :

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine. Une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes [8]. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyl la remplacera en été [9].

I.3.4. Conservation des plantes :

Les plantes doivent être séchées à l'air et à l'ombre. En effet, des modifications chimiques, physiques et biochimiques dues à l'action de la lumière et de la température peuvent influencer

I.4. Caractérisations des huiles essentielles :

L'importance des huiles essentielles dans divers domaines (pharmacie, cosmétique, parfumerie...) nous amène à vérifier leur qualité. La caractérisation d'une huile consiste à :

- Vérifier ses caractéristiques organoleptiques (Aspect, couleur, odeur).
- Déterminer ses indices physico-chimiques (densité, indice de réfraction, et indice d'acide) ;
- Obtenir son profil chromatographique et une quantification relative des différents constituants.

I.4.1. Caractéristiques organoleptiques :

Chaque extrait est caractérisé par ces propriétés organoleptiques telles que l'odeur, l'aspect et la couleur.

a) L'odeur :

L'odorat est un sens chimique très sensible et l'habileté des parfumeurs à classer et caractériser des substances chimiques parviennent à doser les produits naturels et leur perception peut aller jusqu'au dix millionnièmes de grammes par litre d'air[9].

b) La couleur :

La coloration d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur d'une huile donnée[9].

c) L'aspect :

L'aspect d'un extrait dépend des produits qui la constituent, qui peuvent nous apparaître sous forme solide, liquide ou bien solide- liquide.

I.4.2. Propriétés physico-chimiques :

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) étaient autre fois les seules indications permettant d'évaluer la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises. La qualité d'une huile essentielle et sa valeur sont définies par des normes admises et portant sur les indices physicochimiques[9].

a) Densité :

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume, donc c'est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau)[9].

b) Indice de réfraction :

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante

L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière n'est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé[8].

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à ceux de l'eau à 20°C = 1.3356, et de l'huile d'olive à 20°C = 1.4684. Ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

c) Indice d'acide :

C'est le nombre de milligrammes de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de leur état de détérioration. [9].

I.4.3. Analyse physico-chimique des huiles essentielles :

Les propriétés physico-chimiques sont des indices propres constants d'une substance pure. Elles sont toujours mesurées, mais elles sont indiquées à titre indicatif, car la complexité des huiles essentielles ne permet pas de détecter les fraudes uniquement grâce à elles. L'analyse physico-chimique reste donc indispensable et la mieux adaptée pour connaître la composition exacte d'huile essentielle, et donc la plante de laquelle elle est extraite.

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes. Parmi ces méthodes nous parlons sur les méthodes microanalytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces.

Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques.

I.4.3.a. Chromatographie en phase gazeuse :

Il s'agit d'une technique de chimie analytique qui permet de séparer des composés volatils ou volatilissables sans dégradation (non-thermolabiles). Son pouvoir de séparation dépasse celui de toutes les autres techniques, du moins pour les huiles essentielles.

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt .

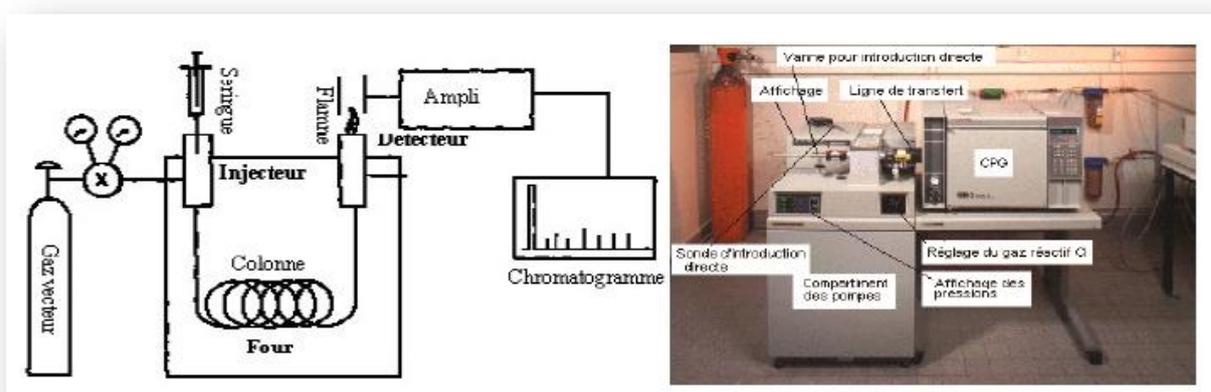


Figure 1.1. Appareillage pour une CPG [9].

La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules [9].

I.4.3.b. La spectrométrie de masse :

La spectrométrie de masse (mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation en phase gazeuse de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

Le spectromètre de masse est souvent couplé avec un système de chromatographie en phase gazeuse, et cette association, d'une méthode séparative et d'une méthode d'identification, permet d'étudier des mélanges complexes à l'état de traces (quelques nano grammes de mélange). Le principe de la spectrométrie de masse est le suivant :

- Un composé organique introduit dans le spectromètre de masse est ionisé par bombardement électronique à 70 eV. L'ion ainsi obtenu, appelé ion moléculaire, permet la détermination de la masse molaire du composé.
- Il peut y avoir des ruptures des liaisons chimiques au sein de l'ion moléculaire, formant ainsi des ions fragments caractéristiques puisque cette dissociation éventuelle ne se fait pas au hasard mais selon des mécanismes bien déterminés.
- Ces ions fragments sont ensuite séparés en fonction de leur rapport masse/charge par l'application d'un champ magnétique et/ou électrique, puis collectés par un détecteur.
- L'ensemble de ces ions fragments constitue le spectre de masse dont la lecture permet l'identification de la structure moléculaire [10].

I.4.3.c. Analyse par couplage CPG/SM :

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM.

La chromatographie en phase gazeuse sépare des fractions moléculaires composant l'échantillon en se basant sur la vitesse de déplacement et le temps de rétention mis pour parcourir une colonne remplie d'une phase stationnaire. La spectroscopie de masse utilise des sources énergétiques pour ioniser, fragmenter et enfin séparer les groupements moléculaires selon le rapport masse/charge électrique (m/q).

La combinaison de ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de

référence contenus dans des bibliothèques de spectres. L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé. Il s'agit de la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielles en raison en grande partie de la facilité de prise en main des systèmes de séparation et de détection performants, avec un coût relativement faible[10].

I.5. Techniques d'extraction des huiles essentielles :

I.5.1. Entraînement à la vapeur d'eau :

Ce procédé consiste à récupérer l'HE des plantes en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau, ces vapeurs saturées en composés organiques volatils sont condensées et récupérées par décantation [11].

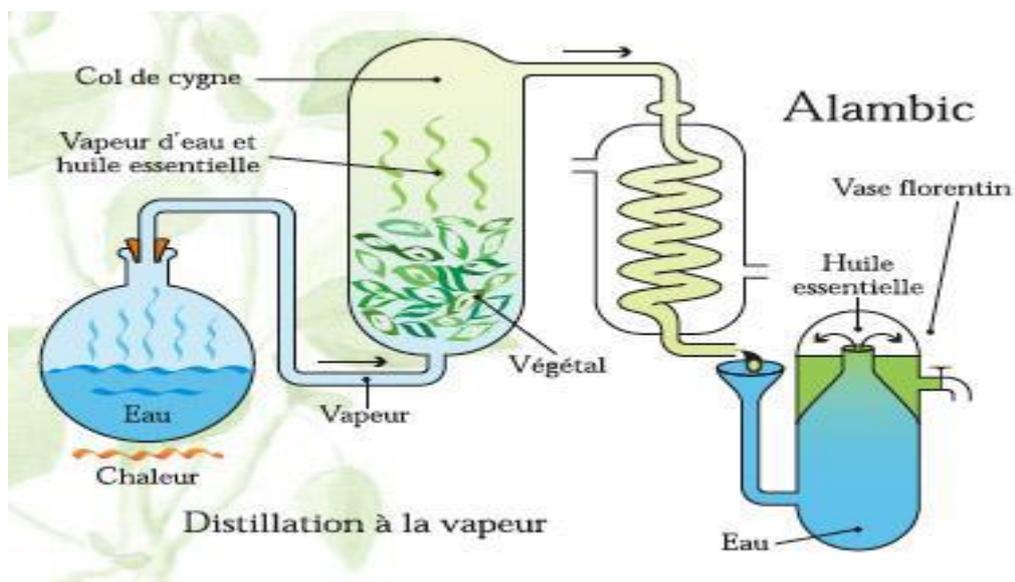


Figure .I.2. Appareillage utilisé pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur [10]

I.5.2. Extraction par solvant organique :

La technique d'extraction par solvant organique, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Les solvants les plus utilisés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé devra

posséder une certaine stabilité face à la lumière, la chaleur ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet [12].

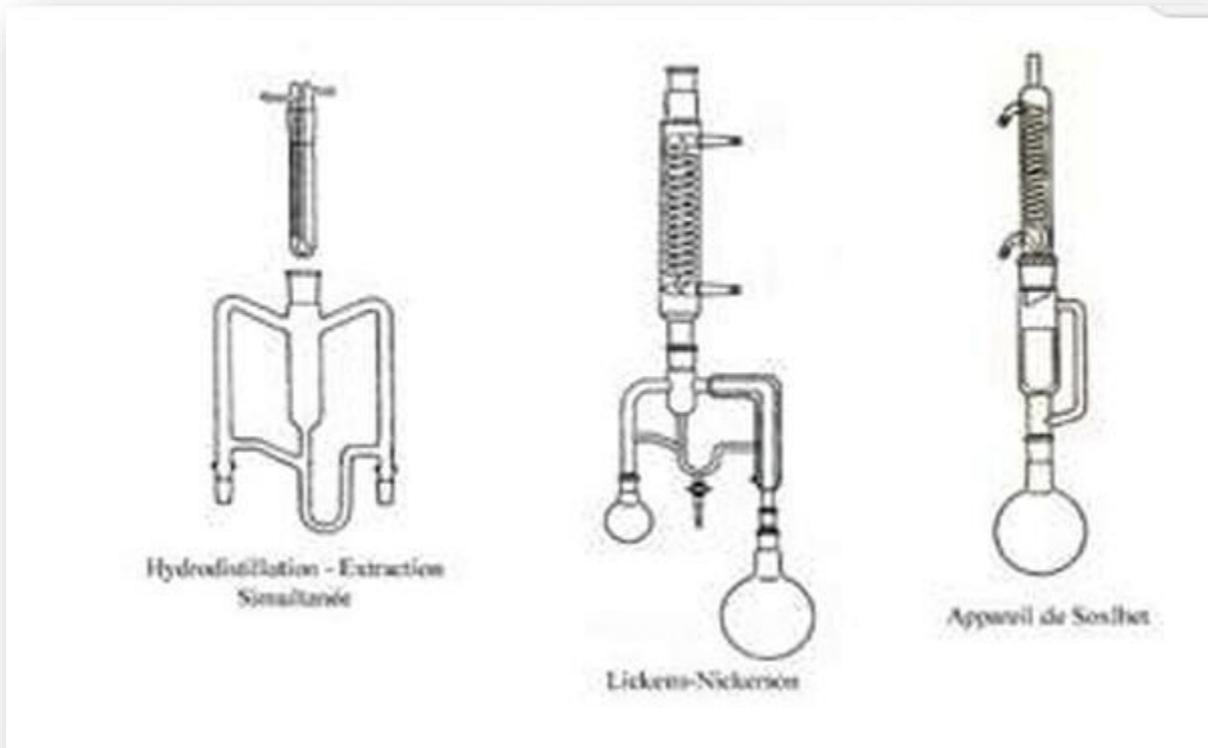


Figure. I.3. Les différents types d'extraction par solvant volatile [12].

I.5.3. Extraction au gaz CO₂ supercritique :

La technique est fondée sur la solubilité des constituants dans le dioxyde de carbone à l'état supercritique. Grâce à cette propriété, le dioxyde de carbone permet l'extraction dans le domaine liquide (supercritique) et la séparation dans le domaine gazeux. Le dioxyde de carbone est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d'extraction choisie. Il est ensuite injecté dans l'extracteur contenant le matériel végétal, puis le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant [13].

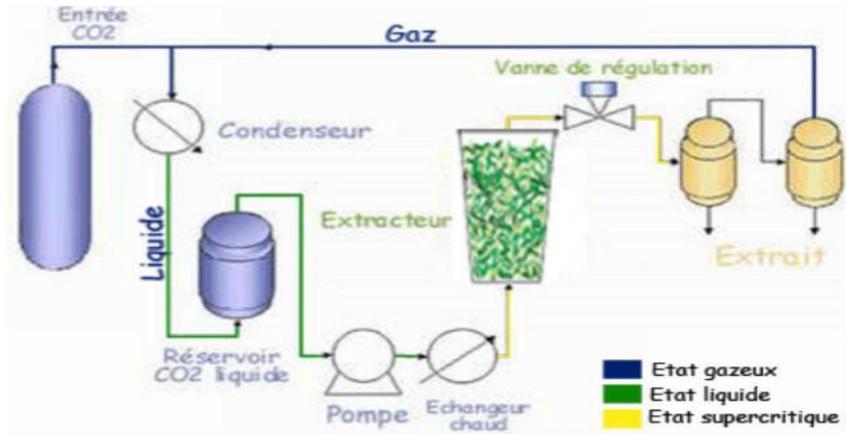


Figure. I.4. Procédé d'extraction au CO₂ supercritique [13].

I.5.4. L'extraction sans solvant assisté par micro-onde :

L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur micro-ondes sans ajout de solvant organique ou d'eau. Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la séparation des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est ensuite entraînée par la vapeur d'eau produite par la matière végétale. Un système de refroidissement à l'extérieur du four micro-ondes permet la condensation du distillat, composé d'huile essentielle et d'eau, par la suite facilement séparable par simple décantation [14].

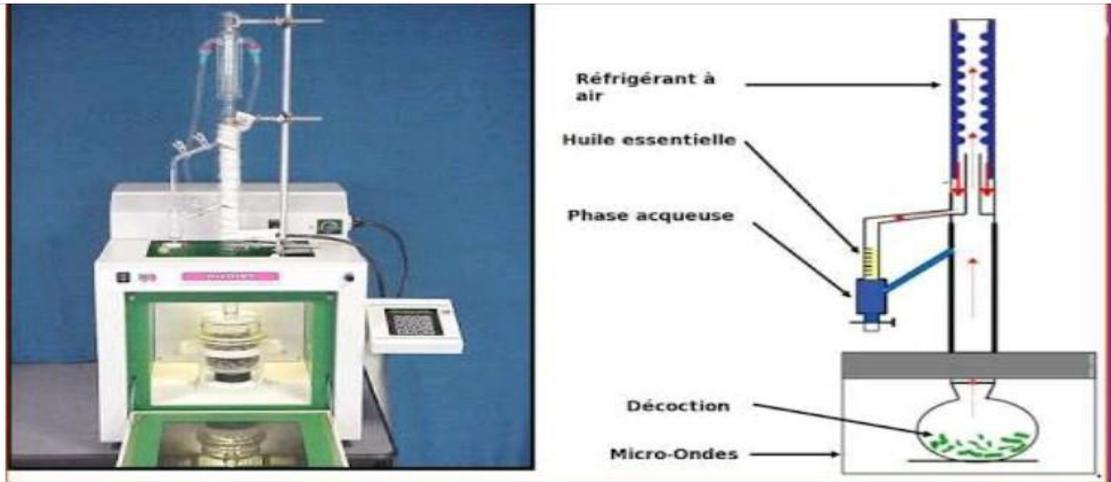


Figure. I.5. Procède d'hydro distillation sous micro-ondes [14].

I.5.5. Hydrodistillation :

L'extraction des huiles essentielle par hydrodistillation est réaliser par un appareil de type Clevenger. Il comprend un ballon de capacité de deux litres contenant de l'eau bouillonnante en contact direct avec la matière végétale. Ce ballon est connecté à un réfrigérant qui sert à condenser la vapeur d'eau contenant l'huile essentielle extraite, le distillat est récupéré dans un ballon ou erlen [15].

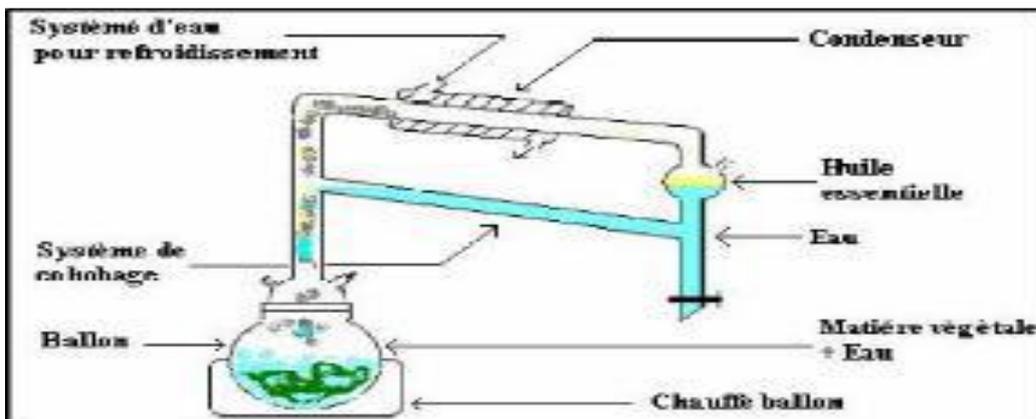


Figure. I.6. Appareillage utilise pour l'hydrodistillation de l'huile (Clevenger) [15].

II.5.6. L'hydrodiffusion :

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant [16].

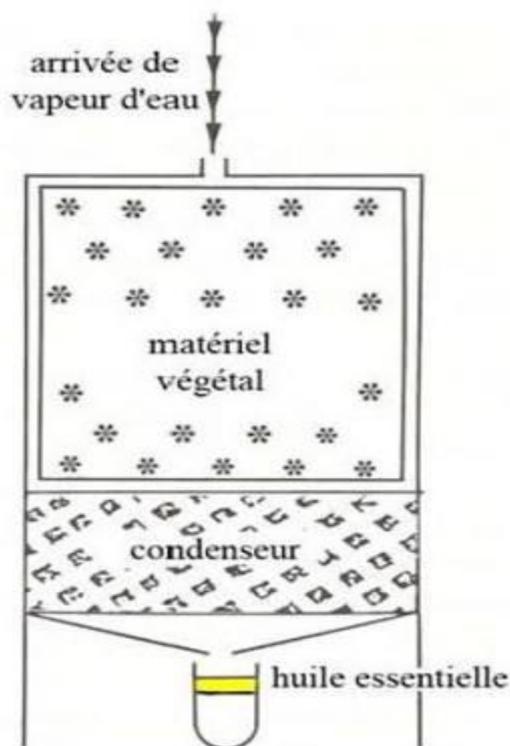


Figure. I.7. L'extraction par hydro diffusion [16].

1.6. Composition chimique des huiles essentielles :

La composition chimique des essences est complexe et peut varier selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques culturales et le mode d'extraction [17].

Les huiles essentielles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles, dans des poils sécrétrices, dans des poches sécrétrices ou dans

des canaux sécréteurs Elles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux : les fleurs, les feuilles, les racines, les rhizomes

les fruits, le bois et/ou les graines Les HEs sont un mélange de constituants qui appartiennent à trois catégories de composés terpéniques, aromatiques et diverses [18].

I.6.1. Terpènes :

Les terpènes sont des hydrocarbures formés par assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques, ce sont des polymères de l'isoprène de formule brute (C₅H₈). Les huiles essentielles contiennent particulièrement des monoterpènes, des sesquiterpènes et peu souvent de diterpènes Les terpènes sont de structures très diverses (acycliques, Monocycliques, bicycliques,...) et contiennent la plupart des fonctions chimiques des matières organiques[19].

I.6.2. Composés aromatiques :

Les composés aromatiques dérivent du phénylpropane (C₆-C₃). Ils sont moins fréquents que les terpènes. Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole. Ils sont fréquemment rencontrés dans les HEs d'Apiacées (cumin, fenouil, persil, etc...) et sont caractéristiques de celles de la vanille, de l'estragon, du basilic, du clou de girofle.

I.6.3. Composés d'origine diverse :

Ce sont des produits résultant de la transformation de molécules non volatiles entraînaibles par la vapeur d'eau. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras, de terpènes, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînaibles lors de l'hydro distillation carbure, acide (C₃ à C₁₀), alcools, aldéhydes (octanal, décanal ...), esters, lactones, produits azotés ou soufrés[19].

I.7. Action biologique, effets thérapeutiques

Depuis des millénaires, les huiles essentielles sont employées pour guérir et prévenir les maladies. Hommes et femmes ont pu constater, de manière empirique dans un premier temps et scientifique plus tard, l'efficacité de ces petites gouttes. A mesure que les études, les expériences et les témoignages s'accumulaient, des principes communs se sont dessinés De nombreuses études ont montré que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et

les effets synergiques entre les composants. Ainsi la nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant. La description de quelques principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des huiles essentielles sont : [20]

I.7.1. Des propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques :

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de Koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde). Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique) [20].

I.7.2. Des propriétés antivirales :

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire [20].

I.7.3. Des propriétés anti-inflammatoires :

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires.

I.7.4. Des propriétés cicatrisantes :

Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abimés et de favoriser la cicatrisation des blessures[20].

I.7.5. Des propriétés circulatoires :

Un grand nombre d'huiles essentielles sont de puissants soutiens pour notre système circulatoire. Elles ont la capacité d'activer la circulation sanguine, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Parmi les huiles essentielles qui ont une action circulatoire, nous retrouvons : les huiles de citron, de genièvre, de menthe poivrée et sauge[20].

I.7.6. Des propriétés digestives :

Les huiles essentielles ont une action manifeste sur le système digestif. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal (huiles essentielles de basilic, d'anis) et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (huiles essentielles de cumin, d'estragon, de menthe poivrée) [20].

I.7.7. Des propriétés antiparasitaires :

Les huiles essentielles de quelques plantes aromatiques comme le géranium, la citronnelle, la menthe et la lavande sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques.

I.7.8. Des propriétés de régulation métabolique :

Les huiles essentielles ont la capacité de réguler l'action de nos glandes. Les mécanismes subtils et délicats mis en jeu par ces dernières étant véritablement complexes, il vaut toujours mieux demander les conseils d'un expert en aromathérapie [20].

I.7.9. Des propriétés antispasmodiques :

Les huiles essentielles de marjolaine, de lavande peuvent arrêter les spasmes, c'est-à-dire les contractions qui se manifestent de façons involontaires dans le corps, aussi bien au niveau rénal qu'au niveau des viscères.

I.7.10. Des propriétés désodorisantes et purifiantes :

A la maison, les huiles essentielles diffusées régulièrement dans l'atmosphère parfument et assainissent l'air que nous respirons [20].

I.8. Evaluation de quelques activités biologiques :

L'importance des différentes activités des huiles essentielles a été évaluée par plusieurs méthodes. Parmi-elles on cite l'activité antioxydante et antibactérienne [20].

I.8.1. Techniques d'évaluation de l'activité antioxydante :

Les antioxydants sont des composés chimiques capables de minimiser efficacement les rancissements, retarder la peroxydation lipidique ou d'autres molécules, sans effet sur les propriétés sensorielle et nutritionnelle du produit alimentaire. Ils permettent le maintien de la qualité et d'augmenter la durée de conservation du produit. L'antioxydant alimentaire idéal, doit être soluble dans les graisses, efficace à faible dose, et non toxique, n'entraîne ni coloration, ni d'odeur, ni saveur indésirable, résistant aux processus technologiques, et stable dans le produit fini. Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro* et *in vivo*, par piégeage de radicaux différents, dont les plus utilisées sont :

a. Test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) :

Le test au DPPH permet de mesurer les propriétés antioxydantes des composés en fonction de leur capacité à piéger le radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Le DPPH• est un radical libre très stable, capable d'accepter un électron ou un atome d'hydrogène formant ainsi la forme non radicalaire 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine (DPPH-H).

Ce radical de couleur violette présente une bande d'absorption à 515 nm dans le méthanol, mais lorsqu'il est mélangé avec une solution protique, sa forme réduite sera générée par le virement de la couleur violette en couleur jaune [21].

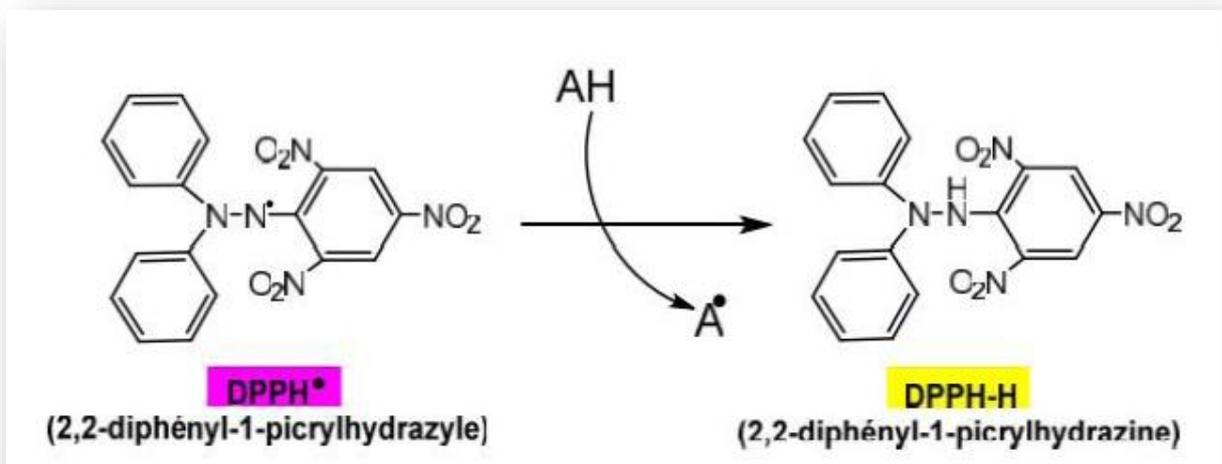


Figure I.8. Forme libre et réduite du DPPH [21].

Donc, en présence d'un antioxydant, la réduction du DPPH s'accompagne de la diminution de la coloration qui peut être suivie par spectrométrie. Le potentiel donneur d'un atome d'hydrogène d'un échantillon est le plus souvent exprimé par le paramètre EC50, qui correspond à la concentration d'antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale de DPPH●. Plus l'EC50 est petite, plus la molécule est antioxydante test au radical libre DPPH s'effectue à température ambiante, ceci permettant d'éliminer tout risque de dégradation thermique des molécules thermolabiles [21].

b. Test de β -carotène :

Dans le test de blanchissement du β -carotène, la capacité antioxydante est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les radicaux peroxydes issus de l'acide linoléique. L'addition d'un antioxydant dans ce système retarde la décoloration du β -carotène. L'auto-oxydation de l'acide linoléique n'étant pas toujours reproductible, une amélioration est apportée en utilisant l'AAPH (2,2'-azobis (2amidinopropane) dihydrochloride) comme amorceur de peroxydation lipidique. La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à une longueur d'onde de 470 nm pendant des intervalles de temps réguliers [21].

c. Test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) :

La méthode FRAP (capacité de réduction des ions ferriques) est basée sur l'étude du pouvoir réducteur des composés. Cette technique mesure la capacité antioxydante en étudiant

la réduction du complexe tripyridyltriazine ferrique (TPTZ-Fe³⁺) à pH faible et à 37°C. La réduction des ions ferriques (Fe³⁺) en ions ferreux (Fe²⁺), conduit à un complexe tripyridyltriazine ferreux (TPTZ-Fe²⁺) de couleur bleue intense, dont la formation peut être suivie par spectrophotométrie à 593 nm. Ainsi, la formation de ce complexe indiquera un pouvoir réducteur et déterminera la capacité d'un composé à se comporter comme un antioxydant. Les valeurs sont obtenues en comparant à 593 nm l'absorbance d'un mélange réactionnel contenant l'échantillon à tester, à celle d'un mélange réactionnel contenant une concentration connue en ion ferreux [22].

I.8.2. Techniques d'évaluation de l'activité antibactérienne :

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est connue de façon empirique depuis l'Antiquité. Elle est à mettre en relation avec sa composition chimique, et les possibles effets synergétiques. Les huiles essentielles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HEs, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. Cependant, en raison du souci majeur des consommateurs de denrées sans additifs chimiques, la recherche d'additifs naturels, notamment d'origine végétale, s'est développée particulièrement ces dernières années. Par conséquent, l'utilisation de produits naturels possédant une activité antibactérienne s'avère nécessaire. La détermination du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques expérimentales. Cependant, des difficultés pratiques liées à l'insolubilité des constituants des huiles essentielles dans l'eau, de leur volatilité, de la nécessité de les tester à de faibles concentrations et des problèmes de standardisation des méthodes, peuvent avoir une influence sur les résultats[22].

a. Méthode de diffusion ou des aromatogrammes :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles est réalisée d'abord par la méthode de diffusion sur disques, en raison de sa simplicité et son efficacité pour tester la sensibilité des bactéries. Différents types d'aromatogrammes, en milieu solide, liquide, sont exploitables. Cependant, en pratique quotidienne, c'est le milieu solide qui est le plus simple et le plus facilement reproductible. C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien des huiles essentielles. Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (de cellulose) de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle (10 μ l). Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition [22].

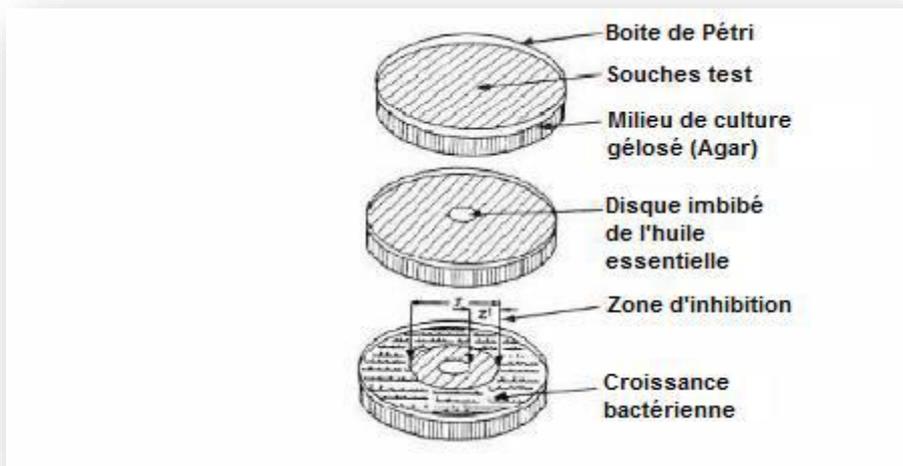


Figure I.9 : Technique de l'aromatogramme [22].

b. Technique en milieu liquide (méthode de dilution) :

La technique de dilution en milieu liquide est utilisée aussi pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices. Une gamme de dilution de l'huile essentielle est additionnée à une série de tubes contenant un milieu de culture liquide, de composition convenable. Après inoculation des espèces microbiennes étudiées et incubation dans les mêmes conditions, la concentration minimale inhibitrice est indiquée par le tube de la dilution à partir de laquelle aucune croissance microbienne n'est constatée. C'est-à-dire qu'aucune turbidité ou trouble n'est observé dans le milieu [23].

c. Technique de diffusion en puits :

Une autre technique de diffusion sans disque, où un puits (d'environ 6mm) est creusé dans la gélose dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle brute ou diluée. Après

Incubation, des zones d'inhibition de croissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées[24].

I.9. Domaines d'utilisation des huiles essentielles :

En raison de leurs diverses propriétés, les huiles essentielles sont devenues une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs, antispasmodique, antidiabétique, analgésique,

Apéritif, antiseptique..., en alimentation par leur activité antioxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante[24].

I.9.1. Dans l'industrie agroalimentaire :

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatisation des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, anis, oranger, thym, laurier). A faible dose, certaines substances ont un effet favorable sur la digestion, ce qui explique leur utilisation en liquoristerie (essence d'anis ou de badiane). Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi. Maintenant, l'industrie agroalimentaire utilise les HEs dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais aussi pour empêcher les contaminations alimentaires qui se développent (effet antimicrobien) [24].

I.9.2. En parfumerie et cosmétique :

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique. Elles présentent environ 60% des matières premières de l'industrie des parfums synthétiques, du par fumage, des savons et des cosmétiques.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence des HEs dans les préparations dermo- pharmacologique, baies « calmant » ou « relaxant », et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de citronnelle, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques; Actuellement, on préfère utiliser des produits naturels qui sont censés ne pas avoir des effets secondaires graves par rapport aux produits de synthèse. En effet, il ne faut pas oublier que « naturel » ne signifie pas non toxique [25].

I.9.3. En pharmacie :

L'industrie pharmaceutique utilise les huiles essentielles dans le domaine des antiseptiques externes ; elle tire parti des propriétés bactériostatiques, bactéricides, antifongiques, protectrices, etc., des essences naturelles.

Les huiles essentielles constituent le support d'une pratique de soins particulière l'aromathérapie. Elles ont grande intérêt en pharmacie, elles s'utilisent sous la forme de

préparations galéniques, et dans la préparation d'infusion (verveine, thym, menthe, mélisse, fleurs d'orange...etc.). Tout fois, il faut souligner que la majorité des constituants de ces derniers sont lipophiles, et de ce fait, rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, voie cutanée ou par voie digestive.

Elles sont également utilisées pour l'obtention des huiles essentielles dans un intérêt médicamenteux (en particulier dans le domaine des antiseptiques externes). Plus de 40% du médicament sont à base de composants actifs de plants. De nombreuses huiles essentielles se trouvent dans la formule d'un très grand nombre de spécialités pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade ...etc. [25].

Conclusion :

Les différents aspects développés dans cette étude bibliographique sur les substances bioactives et notamment les HEs indiquent que ces essences végétales divers et multiples représentant un intérêt économique jouent un rôle important dans les industries agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétologiques. Ces substances de composition chimique complexes (composés terpéniques, aromatiques et autres...), peuvent être isolées à partir des différents organes de plantes (feuilles, fruits, fleurs, graines, etc.) par des techniques traditionnelles ou des procédés innovants [26].

Chapitre II : Présentation de la Plante et Revue de la Littérature

Introduction

L'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie remonte à l'antiquité. L'aneth, *Anethum graveolens* L. appartient à la famille des Apiacées, est utilisé à la fois en médecine et en cuisine. Son utilisation remonte à plus de 2000 ans. Elle a été utilisée dans le traitement de certains troubles comme les troubles digestifs, vomissements, problèmes menstruels, coliques néonatales, et pour régler le taux du cholestérol sanguin et les lipides. Ce chapitre est divisé en deux parties : la première est consacrée à la présentation de la plante. La deuxième partie regroupe quelques travaux antérieurs sur l'aneth de 1977 à 2019. La présentation se base sur le protocole d'extraction, la composition chimique, les tests biologiques, les résultats en précisant la problématique et le but de chaque étude.

II.1. Présentation de la plante médicinale *Anethum graveolens* .:

II.1.1. Définition:

L'aneth est une plante de la famille des Apiacees (ou Umbellifères).

Nom scientifique : *Anethum graveolens* L., famille des Apiacees (ombellifères), genre *Anethum*. Synonymes : *Anethum sowa* Roxburgh, *Ferula marathrophylla* W. G. Walpers, *Peucedanum anethum* Baillon, *Peucedanum graveolens* L., *Peucedanum sowa* (Roxburgh) Kurz. Origine du nom : Aneth vient du latin *anethum*, emprunte au grec *anethon*, d'origine inconnue, et *graveolens* signifie en latin « d'odeur forte », composé de « *gravis* » (lourd, fort) et « *olens* » (sentant) .

Nom commun : aneth, fenouil Baltard, faux anis, fenouil puant Il est cultivé comme plante condimentaire pour ses feuilles et ses graines très aromatiques, et se rapproche du fenouil par son odeur et ses propriétés, d'où ses noms de fenouil Baltard ou faux anis. Le nectar de ses fleurs est très apprécié des abeilles.

Plante annuelle de 20-50 cm, glabre, glaucescente, fétide, à racine pivotante [27]

-Tige grêle, striée, creuse

-Feuilles tripennatisées, toutes finement divisées en lanières filiformes, les supérieures

Sessiles sur une gaine plus courte que le limbe

- fleurs jaunes, en ombelles à 15-30 rayons inégaux

- Involucre et involucre nuls
- Calice a limbe nul
- Pétales entiers, suborbiculaires-tronques, a pointe courbée en dedans
- Fruit ovale-elliptique, comprime par le dos, entoure d'un large rebord plan
- Méricarpes a 5 cotes, les trois dorsales saillantes, filiformes, carénées, les deux marginales dilatées en aile aplanie
- Graine a face commissurale plane.

II.1.2. Répartition géographique :

Cosmopolite, spontanée et cultivée, originaire de la région méditerranéenne, cette plante a l'arome délicieux atteint 1m de hauteur, avec des feuilles divisées en filaments fragiles. Elle expose en été des fleurs jaune vif, suivies de graines très concentrées. Feuilles et graines sont aromatiques, les graines étant depuis toujours utilisées pour faciliter la digestion [27] .

II.1.3. Description de la plante:

Plante herbacée, à tige dressée, pouvant atteindre 1,7 m de haut. Feuilles oblongues a ovées, tri pennées de 20-40 sur 10-20 cm, les derniers segments sont filiformes. Ombelles de 15 cm de diamètre, nombreuses fleurs, pétales jaunes. Fruit ovale-elliptique de 4 mm sur 2 mm. Cette espèce est fréquemment confondue avec *Foeniculum vulgare*, laquelle a une gousse petiolaire plus large et toutes les cotes de fruit égal [28].

II.1.4. La classification phylogénétique: [28]

Est une méthode où seuls les caractères empiriquement observables et propres au rang d'espèce doivent être retenus, car étant les seuls témoins de l'héritage ancestral de chaque espèce.

Règne : *Plantae*

Clade : *Angiospermes*

Clade : *Dicotylédones vraies*

Clade : *Astéridées*

Clade : *Campanulidées*

Ordre : *Apiales*

Famille : *Apiaceae*

Espece : *Anethum graveolens*



a. la fleur



b. la partie aeriene



c. caitule



d. la feuille

Figure II.1. Aspect morphologique de la plante *Anethum g.*

II.1.5. Principaux constituants: [29]

- ✓ Des tanins.
- ✓ Des mucilages.
- ✓ Des matières résineuses.

- ✓ Une huile essentielle.
- ✓ Des flavonoïdes.

II.1.6. Propriétés/indications:

Propriétés médicinales de l'aneth : [29]

Utilisation interne :

Traitement des troubles digestifs, comme les flatulences, les coliques ou les nausées et les vomissements.

Utilisation externe :

Cosmétique : l'aneth entre parfois dans la composition de certains produits de beauté.

Indications thérapeutiques usuelles :

L'aneth permet de lutter contre divers troubles digestifs, essentiellement les flatulences.

Autres indications thérapeutiques démontrées :

L'huile essentielle d'aneth a la propriété de soulager les personnes souffrant de coliques et de spasmes intestinaux. L'aneth est aussi souvent associé à d'autres plantes pour traiter les états grippaux, les rhumes ou la toux. Croquer quelques graines d'aneth après les repas permet d'atténuer la mauvaise haleine.

II.1.7. Utilisation en médecine traditionnelle: [29]

Ses propriétés sont stomachique, digestive, apéritive, antispasmodique, diurétique, anti-inflammatoire, galactagogue (lactation), calmante et préparant au sommeil.

-Utilisé en infusion, l'aneth constitue un excellent stimulant du système digestif.

-Ses graines, en infusion, permettent d'arrêter le hoquet, mal de tête, toux des enfants.

Autres indications : dyspepsie, vomissements d'origine nerveuse, flatulences, insuffisance hépatobiliaire aide la lactation, gaz intestinaux, spasmes, crampes et en tant qu'antiseptique intestinal.

Dans l'histoire, il fut aussi utilisé pour l'épilepsie, et pour favoriser le lait des nourrices, pour calmer les convives ayant trop bu dans les banquets, pour ses vertus aphrodisiaques et contre les mauvais sorts, pour favoriser les capacités du cerveau (XVII^e siècle), pour maintenir la chaleur et l'énergie du corps et apporter une intense vitalité et aussi pour dynamiser le pouvoir d'attraction sur le sexe opposé (XVII^e siècle).

II.2. Revue de la littérature :

II.2.1. Huiles essentielles des espèces d'Aneth *Anethum graveolens*, L. (Umbelliferaer d'Alberta) :

But : ce travail vise à étudier l'huile essentielle des graines d'aneth d'Alberta (Malaisie).

Résultats : Le rendement en HE est entre 1.2 et 1.8% par rapport à la masse sèche des graines. A l'aide de la chromatographie sur couche mince, la chromatographie en phase gazeuse, la spectrométrie de masse et l'infrarouge, la présence de trois constituants majeurs est confirmée : D(+) carvone, D(+)-limonène et D- α -phéllandrène, qui constituent près de 90% de l'HE. Les constituants intermédiaires et mineurs représentent près de 8% dont un peu moins de la moitié est des dérivés de tetrahydrocoumarane suivi par dihydrocarvone, β -phellandrene et β -myrcene. Le carvone et le phéllandrène sont responsables de l'odeur de l'aneth. [30]

II.2.2. L'activité in vitro et in vivo de l'huile essentielle d'aneth contre la détérioration fongique de tomate cerise :

Problématique : La contamination des aliments pendant le stockage par des micro-organismes pathogènes préoccupent toujours les spécialistes en industrie alimentaire.

Les champignons, en particulier certaines espèces *d'Aspergillus et Alternaria*, sont responsables de la détérioration des aliments. Les fruits et légumes frais sont très sensibles aux attaques de différents champignons pathogènes en présence humidité et température. La tomate cerise (*Lycopersicon esculentum*) en Chine et dans de nombreux autres pays est très sensible aux attaques de divers micro-organismes tels que l'*Aspergillus* et l'*Alternaria*, à cause de la chaleur et de l'humidité. [1]

Beaucoup de ces micro-organismes représentent un risque pour les consommateurs en raison des mycotoxines dangereuses qu'ils produisent. L'utilisation d'agents de conservation synthétiques comme agents antimicrobiens pour lutter contre la détérioration fongique des aliments peut créer des problèmes environnementaux et sanitaires en raison de leurs toxicités aiguës et longues périodes de dégradation.

Les produits végétaux sont recommandés dans la formulation des produits antifongiques propres à l'environnement et l'homme.

But : Le but de l'étude est d'étudier l'activité in vitro et in vivo de l'huile essentielle de graines d'aneth contre la détérioration fongique de tomate cerise, par l'*aspergillus* et l'*alternaria*.

Extraction : Les graines d'aneth de chine sont séchées à l'air puis broyées à l'aide d'un moulin. La poudre est tamisée pour obtenir une taille uniforme. Les graines sont mises avec l'eau pour l'hydrodistillation pendant environ 5 h en utilisant un appareil type Clevenger.

Le rendement en huile essentielle est de 3,5% (volume d'HE / masse des graines). L'HE est séchée par le sulfate de sodium anhydre. Après filtration, elle est conservée dans des flacons sombres à 4 °C et à l'abri.

Résultats : Effets antifongiques de l'huile essentielle sur la croissance mycélienne : Les résultats indiquent que la croissance des mycéliums est considérablement réduite avec l'augmentation de la concentration de l'HE d'A. Graveolens alors que leur croissance augmentait avec le temps d'incubation. La CMI de 2,0 µl / ml a donné une inhibition complète de la croissance de tous les champignons d'altération des aliments au bout de 9 jours.

Des études in vitro sur l'huile essentielle d'A. Graveolens indiquent son potentiel comme agent antifongique idéal contre les champignons d'altération des aliments.

Ainsi, des études in vivo montrent son efficacité en tant que pesticide naturel des fruits.

II.2.3. Un essai clinique randomisé sur l'efficacité de l'application d'un protocole simple de graines d'Anethum Graveolens bouillies sur l'intensité de la douleur et la durée des stades du travail : [31]

Problématique : L'aneth contient des tanins provenant généralement de polyphènes qui ont des caractéristiques de contraction. Les graines d'aneth agissent sur le myomètre en influençant le mécanisme des contractions lors de l'accouchement.

Dans la gestion des contractions d'accouchement, le souci est de soulager les douleurs en minimisant les effets secondaires sur la mère et le fœtus. La consommation de graines bouillies d'Anethum Graveolens entraîne une réduction de la durée de la première étape des contractions et accélère le processus d'accouchement. Une étude intéressante a montré que l'infusion de graines d'Anethum Graveolens (1 cuillère à soupe de graines complètes infiltrées dans une demi-tasse ou une tasse entière d'eau bouillante pendant 3-4 minutes) provoquait une augmentation du nombre de contractions et une réduction de la durée du premier stade du travail [32].

But : dans cette perspective la recherche est basée sur des essais cliniques randomisés, en appliquant le protocole simple de graines d'Anethum Graveolens bouillies sur la gestion de la douleur et la durée des phases de travail.

Extraction : les graines d'Anethum Graveolens sont collectées de Yasuj, Iran. La solution bouillie d'aneth: 10 g (deux cuillères à soupe) de graines d'aneth dans 100 ml d'eau bouillie pendant 10 min. Après filtration, cette solution n'est utilisée qu'une seule fois après le début de la phase active dans le groupe d'intervention qui comprend 103 femmes participantes.

Résultats : par rapport au groupe témoin, la durée des étapes de travail sont significativement plus faible dans le groupe d'intervention. Ce qui est conforme aux études

précédentes qui rapportaient l'efficacité des graines d'aneth bouillies pour la réduction des stades de travail lors des contractions. Les composés responsables de cet effet sont le limonène et les tanins qui augmentent les contractions de l'utérus et facilite la progression du processus d'accouchement.

Cette étude a examiné l'effet des graines bouillies d'*Anethum graveolens* sur l'intensité de la douleur et la durée des phases de travail. Il a soutenu les graines bouillies d'*Anethum graveolens* comme un moyen efficace de progresser dans le travail. Il est recommandé d'intégrer cette méthode dans la pratique clinique pour réduire le cumul des césariennes électives.

II.2. 4. Le rendement, la composition et la cinétique d'hydrodistillation de l'huile essentielle de graines d'aneth obtenue par différentes techniques d'hydrodistillation : [33]

Problématique : De nombreuses études ont modélisé la cinétique d'hydrodistillation pour les huiles essentielles [34]. Cependant, peu de données sont disponibles sur l'influence de différentes techniques d'hydrodistillation sur la composition ou la cinétique d'hydrodistillation.

But : le but de cette étude est d'optimiser une technique d'hydrodistillation pour l'extraction de l'huile essentielle de graines d'*A. graveolens*. Une comparaison du rendement, de la composition et de la cinétique de l'hydrodistillation de graines d'aneth obtenue par quatre différentes techniques d'hydrodistillation de type Clevenger est effectuée.

Protocoles d'hydrodistillation : Quatre techniques sont utilisées :

Technique I : Hydrodistillation de type Clevenger classique (cohobation) [35]. 15g de graines d'aneth sont mis dans 300ml d'eau et soumis à Hydrodistillation par Clevenger pendant 5 à 180 min.

Technique II [35] Cette technique est la même que I, seulement l'eau du condensat est combiné avec de l'eau fraîche pour un volume de 300 ml pour la distillation qui suit. Une nouvelle quantité de matériel végétal (15 g) a été utilisée pour chaque distillation. Le temps d'hydrodistillation est de 5 à 120 min. L'expérience est répétée quatre fois avec 15g de graines.

Technique III [36] C'est la même que technique I, seulement après filtration des graines l'eau résiduelle est mélangée avec l'eau du ballon (300 ml) pour l'utiliser dans la prochaine distillation. Le temps d'hydrodistillation est de 5 à 180 min. L'expérience est répétée quatre fois en pesant 15 g de graines à chaque fois.

Technique IV [35] La même chose que la technique I, seulement l'eau du condensateur est combinée à l'eau résiduelle. L'ensemble est ajouté à l'eau de l'hydrodistillation qui est

300ml. L'expérience est répétée quatre fois successivement avec 15g de graines. Le temps d'hydrodistillation est de 5 à 120 min.

Pour les quatre techniques et après avoir refait l'expérience quatre fois pour chaque technique, les huiles essentielles ont été séparées, séchées avec Na₂SO₄ (anhydre), puis analysés par CG – SM.

Résultats : Les résultats montrent que la quantité d'HE, la composition et la cinétique de l'hydrodistillation dépendent de la technique d'hydrodistillation utilisée. Le meilleur rendement est obtenu par la technique III ; c.-à-d. l'eau de l'hydrodistillation est une combinaison entre l'eau fraîche et l'eau filtrée des graines (3,74 ml HE / 100 g de plantes sèche).

Deux modèles cinétiques d'hydrodistillation sont décrits mathématiquement: modèle Ponomarev et modèle de diffusion non stationnaire.

La composition chimique des huiles essentielles obtenues par les techniques I, II, III et IV contient le carvone comme composé majoritaire (85.9, 88.8, 89 et 89.3%, respectivement). On note la présence de limonène, cis-dihydrocarvone, trans-dihydrocarvone, cis-carvéol et transcarvéol. les autres composés sont faibles.

Donc l'HE de graines d'aneth de Sud-Est de la Serbie est un potentiel naturel de carvone bioactive.

II.2.5. Variation de la composition en polyphénols, les propriétés antioxydantes et physiologiques de l'aneth (*Anethum graveolens* L.) sous la carence induit en fer par le bicarbonate : [37]

But : Cette étude vise à étudier les effets de la carence induite en fer par bicarbonate sur la croissance, la performance photosynthétique, teneur en métabolites secondaires et capacité antioxydante associée à des plantules d'*Anethum graveolens* (L.) cultivé dans des conditions contrôlées soit en présence de fer (+ Fe) ou en carence induite en fer (+ Fe + Bic).

Résultats : la production de la masse végétale et les pousses d'aneth est considérablement réduite en carence en Fe, alors que celle des racines n'est pas affectée par cette contrainte. De plus, la carence en Fe induite par la chaux a entraîné une réduction de la concentration de chlorophylle et de Fe. Ce qui est intéressant, bien que cultivé dans des conditions de carence en Fe, la plante a pu augmenter l'efficacité d'utilisation du fer des pousses (EUFe), probablement pour stimuler la capacité d'acidification et activité des chélateurs de Fe dans leurs racines.

Une modulation de la biosynthèse des métabolites secondaires, à savoir les composés phénoliques, et une amélioration de l'activité antioxydante, traduit une protection adéquate contre les oxydations, qui confère une certaine tolérance en cas de carence en Fe pour cette espèce. Ces résultats montrent l'efficacité de la plante en cas carence de Fe.

II.2.6. Évaluation de la cytotoxicité, de l'arrêt du cycle cellulaire et de l'apoptose induites par l'huile essentielle d'*Anethum graveolens* L. dans le cas de carcinome hépatocellulaire chez l'être humain [38]

But : L'effet anticancéreux d'*A. graveolens* en cas de traitement du cancer de l'utérus et de certains types de cancer était rapportée [39]

Extraction : les graines d'aneth d'Arabie Saoudite sont soumises à l'hydro-distillation par Clevenger. L'huile essentielle recueillie a été séchée sur sulfate de sodium, filtrée.

Composition chimique : L'huile essentielle d'*A. Graveolens* est analysé par CG–SM. L'HE contient principalement un mélange de carvone, dillapiole, dihydrocarvone 2 et dihydrocarvone 1. Quelques composés mineurs existent à savoir ; cis-dihydrocarvéol, DL-limonène, isodihydrocarvéol, myristicine et cis-asarone. L'augmentation des concentrations de l'HE d'aneth diminue la viabilité cellulaire de HepG2. L'effet cytotoxique dépend de la concentration de l'huile essentielle d'*A. graveolens* contre les cellules cancéreuses. Les réponses cytotoxiques observées pourraient être dus à la présence de carvone et du limonène.

Conclusion

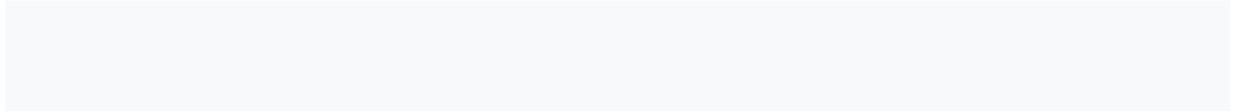
Des résultats prometteurs in vitro et in vivo ont indiqué l'efficacité de l'utilisation de l'huile d'*A. graveolens* comme fumigant pendant le stockage ou le transport prolongé des fruits et légumes. L'exemple présenté est la lutte contre *d'Aspergillus et Alternaria qui détériorent la tomate cerise*. l'huile essentielle est utilisée pour la lutte contre la détérioration fongique des aliments, fruits et légumes. Elle est utilisée comme substitut à la place des conservateurs synthétiques dans les aliments et pour remplacer les pesticides synthétiques dans le cas des fruits et légumes. Les conservateurs et les pesticides sont généralement cancérigènes.

L'infusion de graines d'*Anethum Graveolens* provoque une augmentation du nombre de contractions et une réduction de la durée du premier stade du travail lors de l'accouchement, ce qui évite le recours aux césariennes. La présence des tanins et le limonène sont la cause de cette propriété. Un travail intéressant montre que la quantité d'HE, la composition et la cinétique de l'hydrodistillation dépendent de la technique d'hydrodistillation utilisée. Le meilleur rendement est obtenu par la combinaison de l'eau fraîche avec recyclée des graines déjà hydrodistillées.

Deux modèles cinétiques mathématiques d'hydrodistillation sont proposés: modèle Ponomarev et modèle de diffusion non stationnaire. les huiles essentielles obtenues contiennent le carvone comme composé majoritaire avec la présence de limonène, cis-dihydrocarvone, trans-dihydrocarvone, cis-carvéol et transcarvéol. L'activité anticancéreuse de la lignée humaine de carcinome hépatocellulaire est évaluée en présence de graines d'aneth

qui contient principalement un mélange de carvone, dillapiole, dihydrocarvone² et dihydrocarvone¹.

L'effet cytotoxique dépend de la concentration de l'huile essentielle d'*A. graveolens* contre les cellules cancéreuses. Les réponses cytotoxiques observées pourraient être dus à la présence de carvone et du limonène.



Conclusion

Dans ce mémoire, nous nous sommes intéressés à une plante terrestre, présentant une véritable banque de molécules bioactives à intérêts thérapeutiques, en l'occurrence L'aneth connu par son nom scientifique *Anethum graveolens L.* Les objectifs de ce mémoire se sont développés comme suit:

- Premièrement, un aperçu sur les plantes médicinales était présenté. Un focus particulier était sur les huiles essentielles ; vu l'intérêt thérapeutique de cette classe: définition, répartition, extraction, activité biologique, classification, composition, mode d'actionetc.
- Deuxièmement, après avoir présenté la plante de l'aneth, une synthèse bibliographique comportant des travaux antérieurs sur cette plante jusqu'à 2019 était illustrée. Dans cette synthèse l'intérêt était porté sur les protocoles expérimentaux adoptés dans l'extraction, l'identification et les activités/tests liés à la plante.

L'aneth (*Anethum graveolens L.*) (Apiaceae) est une plante très abondante en Algérie, connu depuis longtemps par ses bienfaits thérapeutiques.

Les études sur l'aneth s'intéressent aux graines, aux feuilles et aux tiges. L'extraction s'effectue soit par hydrodistillation –par Clevenger- pour obtenir l'huile essentielle, soit par macération dans des solvants comme l'éthanol pour avoir la concrète.

L'aneth est très intéressant vu ses propriétés biologiques. D'après les travaux mentionnés dans le mémoire, l'HE de l'aneth peut être utilisée comme alternatif aux pesticides antifongiques pour les fruits et légumes et comme conservateur alimentaire, pour réduire l'effet cancérigène de ces produits synthétiques. L'étude in vitro et in vivo en utilisant l'HE de l'aneth dans la lutte contre les champignons *Aspergillus et Alternaria* qui altère la tomate a confirmé efficacité de ces produits naturelles en fumigation pour améliorer la sécurité alimentaire et éliminer la propagation fongique [1].

Les graines d'aneth en aidant à libérer l'ocytocine agissent sur les contractions utérines causées par l'activité du myomètre. La prise d'aneth en cas de douleurs d'accouchement permet d'éviter les effets secondaires sur la mère et le fœtus, en cas d'utilisation d'agents pharmaceutiques. La prise des graines d'aneth bouillies chez les femmes enceintes lors des contractions d'accouchement permet la réduction des stades de travail lors des contractions et facilite la progression du processus d'accouchement. Les composés responsables de cet effet sont le limonène et les tanins. Il est recommandé d'intégrer ce protocole dans la pratique clinique pour éviter le recours aux césariennes électives.

Le rendement en huiles essentielles, la composition et la cinétique d'extraction dépendent de la technique d'hydrodistillation utilisée. D'après notre revue de la littérature, en testant plusieurs techniques, un rendement maximal peut être obtenu par Clevenger par la combinaison de l'eau fraîche avec l'eau filtrée des graines déjà distillées. Le rendement d'hydrodistillation augmente par l'utilisation de l'eau recyclée d'une autre hydrodistillation.

Deux modèles cinétiques d'hydrodistillation sont décrits mathématiquement: modèle Ponomarev et modèle de diffusion non stationnaire.

La composition chimique des huiles essentielles obtenues contient le carvone comme composé majoritaire avec la présence de limonène, cis-dihydrocarvone, trans-dihydrocarvone, cis-carvéol et transcarvéol.

L'activité anticancéreuse des graines d'aneth pour la lignée humaine de carcinome hépatocellulaire est évaluée. L'huile essentielle d'*A. Graveolens* extraite par hydrodistillation et analysée par CG–SM contient principalement un mélange de carvone, dillapiole, dihydrocarvone² et dihydrocarvone¹, avec l'existence de cis-dihydrocarvéol, DL-limonène, isodihydrocarvéol, myristicine et cis-asarone en quantité moindre. L'augmentation des concentrations de l'HE d'aneth diminue la viabilité cellulaire de HepG2. L'effet cytotoxique dépend de la concentration de l'huile essentielle d'*A. graveolens* contre les cellules cancéreuses. Les réponses cytotoxiques observées pourraient être dus à la présence de carvone et du limonène.

En préparant cette revue de la littérature, et vu l'abondance de cette plante dans la région de Ain Defla, on a confirmé que le l'aneth est une plante qui mérite une attention particulière. On aimerait bien qu'il y aura des travaux de recherche sur cette plante très riche en composés bioactifs.

Référence bibliographique

- [1] : J. Tian, X. Ban, H. Zeng, B. Huang, J. He, Y. Wang, In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens L.*) against fungal spoilage of cherry tomatoes, *Food Control*, 22, 1992-1999 , 2011.
- [2] : K. H.C. Baser, G. Buchbauer, *Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications*, Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America, p. 994, 2010.
- [3] : D. Festy., « *100 Réflexes AROMATHERAPIE : Je me soigne avec les huiles essentielles, Pratiques Efficaces et Faciles* », Ed. Leduc. S, p. 6-20, 2008.
- [4] : G. René Maurice, « *Aromathérapie- Les huiles essentielles hormones végétales* », Librairie des sciences, Giradot &Compagnie, Paris, 1937.
- [5] : A. Ultee , M.H.J. Bennik, R.Moezelaar ,The phenolic hydroxyl group of carvacrol in essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*, *Applied and environmental microbiology*, 68, 1561-1568, 2002.
- [6] : P. Franchomme, R. Jollois, « *L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles* », Ed. Jollois, 2001.
- [7] : G. Roulier, « *Les huiles essentielles pour votre santé* », Ed. Dangles, p.336 ,2000.
- [8] : E. Joy Bowes, « *The chemistry of Aromatherapeutic Oils* », 3rd Edition, p. 56, 2003.
- [9] : H. Viaud., *Les huiles essentielles et leur distillation, Thérapeutique naturelle*, p. 924,1993.
- [10] : AFNOR, association française de normalisation: huile essentielle, Ed, Afnor, Paris, 2000.
- [11] : H. Dorman et SG. Deans, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308–316, 2000.
- [12] : K. Dastmalchi, H.J. Damien Dorman, P.P. Oinonen., Y. Darwis., I. Laakso and R. Hiltunen, Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis L.*) extract *LWT*, 41391 – 400, 2008.
- [13] : M. T. Tena and M. Valcarcel, Supercritical Fluid Extraction of Natural Antioxidants from Rosemary: Comparison with Liquid Solvent Sonication, *Anal. Chem.*, 69, 521- 526, 1997.
- [14] : D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl and C.S. Eskilsson, Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 :3, 223-233, 2005.

- [15] : M. T. Golmakani and K. Rezaei., Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vsulgari*L. *Food chemistry.*, 109, 925-930, 2008.
- [16] : S. Kessbi, Etude des propriétés physicochimique et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'*eucalyptus globulus* dans la région de Ouargla. Master en Génie des Procédés, Univ Kasdi Marbah ,Ourgla, 2011.
- [17] : T. S. Reighard and S. V. Olesik, Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26,1-39, 2006.
- [18] : MC. Blanc, A. Muselli, P. Bradesi, J. Casanova, Chemical composition and variability of the essential oil of *Inula graveolens* from Corsica. *FlavourFragr. J.* 19: 314-319, 2004.
- [19] :R. Ksouri, R. Megdiche, W. Debe., A. Falleh, H. Grignon, C. Abdelly, Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakilemaritima*. *Plant, PhysiolBioch*, 45, 244-249, 2007.
- [20] : A. Boras, D. Tenover, T. Popovic, First report of *Neisseria meningitides* intermediately resistant to penicillin in Croatia. *J. Clin. Microbiol.*39, 823, 2001.
- [21] : R. N. CarvalhoJr, L. S. Moura., P. T.V. Rosa, M. A. A. Meireles, Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity, *J. of Supercritical Fluids*, 35 , 197–204, 2005.
- [22] : J. Bruneton, *Terpènes et stéroïdes. In Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales.* 3^{ème} Ed., Tec & Doc, Paris, p. 461 -769, 2008.
- [23] : S. Calsamiglia, M, Busquet , PW. Cardozo, L. Castillejos, A. Ferret and I. Fandiño, TheUse of Essential Oils in Ruminants as Modifiers of Rumen Microbial Fermentation.Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop.November 13-14. Granville (PA), p. 87-100, 2007.
- [24] : E. Hurtado-Fernandez ,M. Gomez- mero, A. Carrasco, F. Gutierrez, Application and potential of capillary, electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,53, 1130–1160, 2010.
- [25] : H. Li, Z. Deng, T. Wu, R. Liu, S. Loewen, R. Tsao, Microwave-assisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes, *Food Chemistry*, 130, 928–936, 2011.
- [26] :M. Lahlou., Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy, Research* , 18: 435-448, 2004.
- [27] : A. Gharibn, Mard SA, Y. Farboud, Effect of *Anethum Graveolens* fruit extract on rat uteruscontractions. *Iran J Basic Med Sci*,8(4), 263—70, 2005.

[28] : M. Mansouri, N. Nayebi, A. Keshtkar, S. Hasani-Ranjbar, E. Taheri, B. Larijani, The effect of 12 weeks *Anethum Graveolens* (dill) on metabolic markers in patients with metabolic syndrome; a ran-domized double blind controlled trial, *DARU*,20 (October1)4, 2012.

[29] :L. Jirovetz, G. Buchbauer, , A.S. Stoyanova, E.V. Georgiev, S.T. Damianova, Composition, quality control, and antimicrobial activityof the essential oil of long-time storeddill (*Anethum graveolens L.*) seeds from Bulgaria.*J.Agric.Food Chem*, 51,3854–3857, 2003.

[30] : M. B. Embongb and D. adziyev Can, Essential Oils From Spices Grown in Alberta Dill seed oil, *Anethum graveolens, L. (Umbelliferaer)*, *Inst. Food Sci. Technol. J.*,10 : 3, 1977.

[31] : S. F. Hekmatzadeha, F. Bazarganipourb, J. Malekzadehc, F. Goodarzyd, S. Aramesh, A randomized clinical trial of the efficacy ofapplying a simple protocol of boiled *Anethum Graveolens* seeds on painintensity and duration of labor stages _ *Complementary Therapies in Medicine* 22, 970—976 , 2014.

[32] : SE. Zagami, N. Golmakani, M. Kabirian, M. T.Shakeri, Effect of dill (*Anethum graveolens* Linn.) seed on uterus contractions pat-tern in active phase of labor. *Indian J Tradit Knowl*, 11:602—6.16 , 2012.

[33] : Ljiljana P.Stanojevi´ca, NikoS.Radulovi´cb, TatjanaM.Djoki´cc, BiljanaM.Stankovi´ca, Dušica P.Ili´ca, MiloradD.Caki´ca, VesnaD.Nikoli´ca The yield,compositionandhydrodistillationkineticsoftheessential oil of dillseeds(*Anethi fructus*) obtainedbydifferenthydrodistillation techniques, *Industrial Crops and Products* 65, 429–436, 2015.

[34] : C,S.Z. Milojevi, V.B. Radosavljevi, D.B. Pavicevi, V.P.,Pejanovi, S. Veljkovi, Modeling thekineticsofessentialoilhydrodistillationfromplantmaterials. *Hem. Ind.*67, 843–859. 2013.

[35] : M. Stankovi, Z. Nikoli, N.C. Stanojevi, L.P, M.D. Caki, The effect of hydrodistillation technique on the yield andcomposition of essentialoil from the seed of *Petroselinum crispum* (Mill) Nym.ex.A.W. Hill. *Hem. Ind.*58, 409–412, 2004.

[36] : Lj. Stanojevi´c,Stankovi, M. Caki, M. Nikoli, V. Nikoli, L. Ili, D. ,Radulovi, The effect of hydrodistillation techniques on yield, kinetics, composition and antimicrobiala ctivity of essential oils from flowers of *Lavandula officinalis L.*, *Hem . Ind*, 65, 455–463., 2011.

[37] : A.M.S. Silvad, R. Ksourib, S.M. Cardosod, H.Waslia, N. Jelalic, Variation of polyphenolic composition, antioxidants and physiological characteristics of dill (*Anethum graveolens L.*) as affected by bicarbonateinduced iron deficiency conditions, *Industrial Crops & Products* 126, 466–476, 2018.

[38] : S. Ebtessam, Al-Sheddi, Nouf A. Al-Zaid, M. Mai Al-Oqail, M. Shaza, A. A. Ali, E. Nida, N. Farshori, Evaluation of cytotoxicity, cell cycle arrest and apoptosis induced by *Anethum graveolens L.* essential oil in human hepatocellular carcinoma cell line, , *Saudi Pharmaceutical Journal* 27, 1053–1060 , 2019).

[39] : A .Tariq, S. Sadia, K.Pan, , I. Ullah, S. Mussarat, F. Sun, O. Abiodun, O. Batbaatar, A. Li, Z. Song, D. Xiong, Q. Ullah, R. Khan, S. Basnet, B.B. Kumar, B. Islam, R. Adnan, A systematic review on ethnomedicine of anti-cancer plants. *Phytother. Res*, 31:2, 202–264 , 2017.