

ANTIMICROBIAL PROPERTY OF THE ESSENTIAL OIL FROM THE MOROCCAN FENNEL FRUITS

Yasmine Ghouati

Faculté des Sciences de Meknès, Département de Biologie, BP 11021, Zitoune, 50000 Meknès, Maroc.

Touriya Belaiche

École Nationale d'Agriculture, Unité de Technologie Alimentaire et de Biochimie, BP S/40, 50000 Meknès, Maroc.

Mohammed Ouhssine

Faculté des Sciences de Kénitra, Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Université Ibn Tofaïl, 14000 Kénitra, Maroc;

Ali Amechrouq

Laboratoire de Chimie Moléculaire et substance Naturelle Université Moulay Ismail Faculté des Sciences BP 11021 Zitoune 50000 Meknès, Maroc;

Abdessalam Tahiri

École Nationale d'Agriculture, Département de Protection des Plantes et de l'Environnement, BP S/40, 50000 Meknès, Maroc;

Said Chakir

Faculté des Sciences de Meknès, Département de Biologie, BP 11021, Zitoune, 50000 Meknès, Maroc;

ABSTRACT:

*The yield, chemical composition and antimicrobial proprieties of the essential oil extracted from *Foeniculum vulgare* mill from (Morocco) were studied. The essential oils yield average is 3.11%. Twelve components were identified by GC and GC/MS; trans-anethol, fenchone, limonene and estragole, are the principal components of this oil. The fruits essential oil of fennel has an inhibiting capacity of the growth of seven microbial strains.*

KEYWORDS: *Foeniculum vulgare* mill, Essential oil, Antimicrobial properties, Chemical composition.

INTRODUCTION

Originnaire du bassin méditerranéen, le fenouil est connu depuis l'Antiquité. Il s'agit d'une espèce qui, à la différence du fenouil horticole cultivé comme légume, croit spontanément sur les terrains incultes et secs. On la cultive aussi en serre à des fins médicinales (Cecchini et Ticli, 2004). Cette plante aromatique vivace de la famille des ombellifères possède une racine ligneuse et une tige buissonnante mesurant jusqu'à 1,50 m de haut. Les branches, finement ramifiées, sont cylindriques, striées, luisantes et vert brillant. Les feuilles sont minces et très découpées; les fleurs sont d'un jaune intense. Les fruits sont des akènes ovoïdes de 1cm de long attachés deux par deux. La plante a une odeur et une saveur anisées.

Le fruit est utilisé aussi bien comme condiment alimentaire, que comme remède en médecine traditionnelle. Il possède des propriétés stomachique, antispasmodique, anti-inflammatoires, analgésique, digestive, carminative, antiseptique... (Bellakhdar, 2006). L'huile essentielle des fruits est utilisée pour aromatiser certains produits alimentaires, elle est aussi utilisée dans la fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques (Telci et al., 2009). Plusieurs travaux ont démontré ses activités biologiques: antimicrobienne contre les bactéries et les champignons (Cantore et al., 2004), insecticide (Kutukoglu et al., 2012), antithrombotique (Tagnolini et al., 2007), hépatoprotectrice (Ozbek et al., 2003), antioxydante (Ruberto et al., 2000), antidiabétique (El-Soud et al., 2011), insecticide (Ebadollahi, 2013), acaricide (Lee, 2004) et anticorrosive (Lahhit et al., 2011).

La composition chimique de l'huile essentielle du fenouil collectée dans différentes régions du monde a été étudiée. Une grande variabilité dans le rendement et dans la composition chimique de l'huile essentielle a été observée (Anwar et al., 2009 ; Aprotosoia et al., 2010 ; Dia et al., 2014 ; Damayanti et Setyawan, 2012 ; Damjanovic et al., 2005). Ils dépendent considérablement de l'origine géographique (Diaz-Morto et al., 2005), et du stade de maturation, (Guillen et Manzanos, 1996, Telci et al., 2009).

Une grande partie des recherches actuelles porte sur l'étude de molécules antimicrobiennes d'origine végétale. Nous avons trouvé qu'il est intéressant d'inscrire ce travail dans ce contexte de recherche. Le fenouil pousse spontanément au Maroc. Le but de cette étude est de valoriser le fenouil du Maroc. Nous avons commencé par une caractérisation chimique suivie d'une étude de l'effet antimicrobien de l'huile essentielle extraite des fruits. Ce dernier test a été accompli sur quatre souches bactériennes pathogènes et trois moisissures.

MATERIELS ET METHODES

Matériel végétal

Le fenouil pousse spontanément dans la région d'Ain Orma près de Meknès. Les parties aériennes des plantes ont été récoltées et ont été séchées à l'ombre et les fruits ont été récupérées. La récolte a été effectuée durant le mois de Juillet 2011.

Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle est effectuée par hydrodistillation dans un appareil de type Clevenger. La distillation de 100g de fruits dans deux litres d'eau a eu lieu trois heures à partir de l'ébullition. Le rendement en huile essentielle est rapporté à 100g de matière sèche. Les fruits entiers ont été séchés à l'étuve sous une température de 105°C jusqu'au poids constant. L'huile essentielle ainsi obtenue est séchée sur sulfate de sodium anhydre puis stockée à 4°C à l'obscurité.

Analyse chromatographique

L'identification des constituants a été réalisée par CPG/SM : chromatographe à phase gazeuse Trace GC ULTRA couplé à un spectromètre de masse Polaris Q MS à trappe ionique; solvant: n-hexane; colonne VB-5 (méthylpolysiloxane à 5% phényl), 30m x 0,25mm x 0,25µm; volume d'injection 1µl ; température d'injection 220°C ; température de détection pour la CPG est de 40°C; température d'interface 300°C; mode d'injection split; gaz vecteur hélium à 1,4ml/min

; programme de température 40°C 2min, 40 à 180°C à 4°C/min, 180 à 300°C à 20°C/min pendant 2mn. La température de la source d'ionisation est de 200°C ; ionisation 70eV ; base de données utilisée : NIST MS Search.

Microorganismes étudiés

Le test antimicrobien est réalisé sur les microorganismes suivants : *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Aspergillus niger*. Ils ont été choisis pour leurs fréquences élevées à contaminer les denrées alimentaires et pour leur pathogénicité.

Ils nous ont été fournis du Laboratoire de l'unité de Technologie Alimentaire et de Biochimie de l'École Nationale d'Agriculture de Meknès. Les bactéries ont été entretenues par repiquage sur gélose cœur cervelle. L'incubation se fait à l'étuve à 37°C pendant 24 heures. En revanche, les moisissures citées ci-dessus sont cultivées sur le milieu malt extract agar (MEA), l'incubation se fait à l'étuve à 25°C pendant 7 jours.

Test biologique

La méthode décrite par Remmal et *al.*, (1993), qui permet d'obtenir une émulsion de l'huile essentielle dans le milieu de culture, a été retenue. Étant non miscible à l'eau et donc aux milieux de culture, l'huile essentielle a été émulsionnée par une solution d'agar à 0,2% afin de favoriser le contact germe/composé.

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'huile essentielle ont été déterminées selon la méthode décrite par Remmal et *al.*, (1993) et Satrani et *al.*, (2001).

Des dilutions sont préparées au 1/10, 1/25, 1/50, 1/100, 1/200, 1/300 et 1/500 dans la solution d'agar. Dans des tubes à essais contenant chacun 13,5ml de milieu gélosé TSA (Tryptic Soja Agar), stérilisés à l'autoclave pendant 20min à 121°C et refroidis à 45°C, sont ajoutés 1,5ml de chacune des dilutions de façon à obtenir les concentrations finales de 1/100 à 1/5000 (v/v). Les tubes sont ensuite convenablement agités avant d'être versés dans des boîtes de Pétri. Des témoins, ne contenant que le milieu de culture additionné de la solution d'agar à 0,2% seule ont été préparés. L'ensemencement des bactéries se fait par stries à l'aide d'une anse de platine calibrée afin de prélever le même volume d'inoculum. Ce dernier est prélevé d'une culture jeune en bouillon de culture (18h à 37°C). Pour les champignons le milieu gélosé (MEA) estensemencé par un fragment de 6mm de diamètre prélevé à la périphérie d'une culture fongique dans le milieu MEA âgée de sept jours. Chaque essai a été répété trois fois afin de minimiser l'erreur expérimentale.

RESULTATS

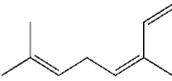
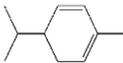
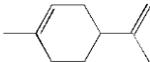
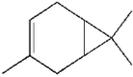
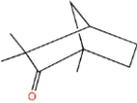
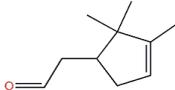
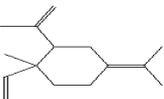
Optimisation du rendement en huile essentielle

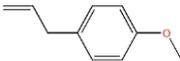
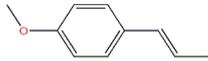
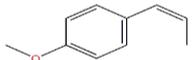
Le rendement dépend du traitement appliqué aux fruits. Il est de 2,22% pour les fruits entiers, 2,55% après concassage au mortier et 3,11% après broyage au moulin électrique.

Composition chimique

L'analyse de l'huile essentielle des fruits du fenouil par CPG/SM a révélé la présence des composés majoritaires et d'autres en petites quantités chimiques dont 12 molécules chimiques ont été identifiées (**Tableau 1**). Quatre constituants chimiques dominent l'huile essentielle : le trans-Anéthol, le fenchone, le limonène et l'estragole avec des pourcentages respectifs de 53,20% ; 9,55% ; 8,14% et 5,29%. D'autres composés sont également présents, mais à des teneurs moins importantes : α -pinène (0,96%), α -campholène (0,34%), 3-carène (0,26%), γ -élémente (0,17%), cis-beta ocimène (0,14%), L'ensemble des constituants contribue au mélange à concurrence de 78,35%. L'huile essentielle est principalement constituée par les monoterpènes oxygénés (68,42%) suivis par les hydrocarbures monoterpéniques (9,76%) et les hydrocarbures sesquiterpéniques (0,17%). Le trans-anéthol, le fenchone et l'estragole sont les principaux monoterpènes oxygénés, tandis que le limonène est le composé monoterpénique majeur.

Tableau 1. Principaux constituants de l'huile essentielle des fruits de *Foeniculum vulgare Mill*

TR	Constituants	Formule chimique	Structure	Pourcentage
8,11	α -pinène	$C_{10}H_{16}$		0,96
8,58	Camphène	$C_{10}H_{16}$		0,13
9,51	Cis-beta-Ocimène	$C_{10}H_{16}$		0,14
10,6	α -Phellandrène	$C_{10}H_{16}$		0,13
11,44	Limonène	$C_{10}H_{16}$		8,14
12,58	3-Carène	$C_{10}H_{16}$		0,26
13,47	Fenchone	$C_{10}H_{16}O$		9,55
15,43	α -Campholène aldéhyde	$C_{10}H_{16}O$		0,34
18,22	γ -Elémène	$C_{15}H_{24}$		0,17

18,67	Estragole	C ₁₀ H ₁₂ O		5,29
20,57	trans-Anéthol	C ₁₀ H ₁₂ O		53,2
21,17	cis-Anéthol	C ₁₀ H ₁₂ O		0,04
Total				78,35%
Hydrocarbures monoterpéniques				9,76%
Monoterpènes oxygénés				68,42%
Hydrocarbure sesquiterpénique				0,17%

Activité Antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite des fruits de fenouil contre des microorganismes qui contaminent les denrées alimentaires a été étudiée. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 2**.

L'huile essentielle des fruits de fenouil est antibactérienne à 1/1000 pour *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*, alors que pour *Escherichia coli* et *Salmonella thyphi*, la concentration minimale inhibitrice est de 1/500 (**Tableau 2**). La concentration minimale inhibitrice est de 0,97 mg/ml sauf pour *Escherichia coli* et *Salmonella thyphi*, elle est de 1,94 mg/ml.

La croissance mycélienne des trois moisissures *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* et *Aspergillus niger* est inhibée par une concentration minimale de 0,97mg/ml (**Tableau 2**).

Tableau 2. Volumes inhibiteurs et concentrations minimales inhibitrices de l'huile essentielle du fruit de *Foeniculum vulgare* Mill. De Meknès (Maroc)

Concentration	1/10	1/25	1/50	1/100	1/200	1/300	1/500	Témo in
(mg/ml)*	9,70	3,88	1,94	0,97	0,48	0,32	0,19	0
Bactéries								
<i>Bacillus cereus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>Salmonella thyphi</i>	-	-	-	+	+	+	+	+
Champignons								
<i>Penicillium digitatum</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Penicillium italicum</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	-	-	-	-	+	+	+	+

-: Inhibition;

+: Croissance;

*: Concentration calculée en fonction de la moyenne de la densité de 0,97g/ml.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Le rendement en huile essentielle extraite à partir des fruits du fenouil est de 3,11%. C'est un rendement intéressant pour une exploitation industrielle.

L'analyse chimique de cette huile par CPG/SM nous a permis d'identifier douze composés, avec comme produits majoritaires le trans-anéthol, le fenchone, le limonène et l'estragole. Ce profil est caractéristique de notre chémotype, il diffère des profils trouvés dans la littérature. L'huile essentielle des fruits de fenouil originaire de la chine (Diao et *al.*, 2014) contient le trans-anéthol (68,53%), l'estragole (10,42%), le limonène (6,24%) comme produit majoritaires, alors que le profil de l'huile du fenouil originaire du Pakistan (Anwar et *al.*, 2009) est comme suit : le trans-anéthol (69,87%), le fenchone (10,23%), l'estragole (5,45%) et le limonène (5,10%). Les travaux de recherche sur l'huile essentielle des fruits du fenouil natif de la région Podgorica au centre sud de Mon-tenegro. (Damjanovic et *al.*, 2005) ont révélé la présence du trans-anéthol (62,0%), du fenchone (20,3%), d'estragole (4,90%) et du limonène (3,15%) comme produits majoritaires. Mimica-Dukic et *al.*, (2003) ont aussi rapporté que le trans-anéthol (74.18%), le fenchone (11,32%), l'estragole (5.29%) le limonene (2.53%) et l' α -pinène (2,77%) sont les produits majoritaires de l'huile essentielle du fenouil. Telci et *al.*, (2009) ont trouvé la plus grande valeur du trans-anéthol (84,12%) et la plus faible valeur est enregistrée pour l'estragole, le limonène et le fenchone (4,19-5,53% ; 2,96-4,69% ; 1,17-2,65%, respectivement) dans l'huile essentielle du fenouil de la Turquie. Napoli et *al.*, (2010) ont rapporté que les constituants majeurs de l'huile essentielle du fenouil Sicilien (Italie) sont l'estragole et le fenchone. Cette composition reste très différente de celle obtenu pour notre chémotype. Ces variations quantitatives dans la composition chimique de l'huile essentielle dans différents pays pourraient être attribuées aux paramètres agroclimatiques, l'origine géographique (Diaz-Maroto et *al.*, 2006), les variétés cultivées, le stade de maturité des fruits de fenouil et aussi les méthodes d'extraction (Diaz-Maroto et *al.*, 2005), l'adaptation du métabolisme de la plante et aussi les conditions d'analyse de l'huile essentielle.

L'huile essentielle a montré une activité antimicrobienne considérable contre les microorganismes testés, particulièrement contre les bactéries à Gram-positive. Ces résultats sont en accord avec les résultats trouvés par Anwar et *al.*, (2009) et Cantore et *al.*, (2004) qui ont montré que l'huile essentielle du fenouil est plus efficace sur les bactéries à Gram-positif. Ozcan et *al.*, (2006) ont montré que l'huile essentielle du fenouil exerce un effet inhibiteur contre plusieurs espèces de Bacillus. Anwar et *al.*, (2009) et Mimica et *al.*, (2003) ont rapporté que l'huile essentielle du fenouil est active contre les espèces d'Aspegillus. L'étude du mécanisme d'action de l'huile essentielle du fenouil sur Shigella dysenteriae (Diao et *al.*, 2014) a permis de conclure que l'huile essentielle agit sur l'intégrité de la membrane en agissant sur la liaison des électrolytes, et par la perte des composés (protéines, sucres réduits, et certains matériaux qui absorbent à 260nm). Ce mécanisme d'action a été confirmé par les observations au microscope électronique.

La croissance des microorganismes pathogènes ou d'altération peut diminuer la qualité nutritionnelle par consommation des nutriments incluant les lipides, les protéines et les glucides qui sont présents dans les aliments, par conséquent, ils causent des changements au niveau de l'aliment, à savoir la couleur, la biochimie, la perte de poids et la toxicité. Ces changements vont affecter la santé de l'Homme. La méthode la plus appropriée pour inhiber la croissance de ces microorganismes est l'utilisation des conservateurs alimentaires. Les

huiles essentielles sont des métabolites secondaires des plantes et qui possèdent de larges applications dans l'industrie agroalimentaire, soit pour aromatiser et/ou conserver les aliments (Bajpai et al. 2012).

L'huile essentielle des fruits du fenouil testée vis-à-vis des souches pathogènes a montré une activité biologique non négligeable. C'est probablement le résultat de la présence du trans-anéthol connu pour son activité antimicrobienne.

Récemment, certains chercheurs ont rapporté que les hydrocarbures monoterpéniques ou sesquiterpéniques et leurs dérivés oxygénés, qui sont les principaux composants des huiles essentielles, présentent une activité antimicrobienne (Cakir et al., 2004). Ces résultats soutiennent fortement cette étude, puisque l'huile essentielle des fruits du fenouil contient ces composés, ce qui confirme son efficacité comme agent antimicrobien naturel.

Les résultats du présent travail nous ont encouragés à réfléchir sérieusement à la domestication de cette plante et à l'extraction de son huile essentielle. Une telle approche va certainement contribuer à la création d'opportunités économiques et à améliorer le revenu des agriculteurs de la région.

REFERENCES

- Anwar, F., Ali, M., Hussain, A. I. and Shahid, M. (2009) Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Pakistan, *Flavour and Fragrance Journal*, 24 170-176.
- Aprotosoiaie, A.C., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A. and Tanasescu, V.F. (2010) The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.), *Farmacologia*, 58(1) 46-53.
- Bajpai, V.K., Baek, K.H. and Kang, S.C. (2012) Control of salmonella in foods by using essential oils : a review, *Food Research International*, 45 722-734.
- Bellakhdar, J. (2006) Plantes Médicinales au Maghreb et soins de base - Editions Le Fenec, p148-149 (385p.).
- Cakir, A., Kordali, S., Zengin, H., Izumi, S. and Hiratas, T. (2004) Composition and antifungal activity of essential oils isolated from *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum hyssopifolium* and *Hypericum*, *Flavour and Fragrance Journal*, 19 62-68.
- Cantore, P.L., Iacobellis, N.S., De Marco, A., Capasso, F. and Senatore, F. (2004) Antibacterial Activity of *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum vulgare* Miller var. *vulgare* (Miller) Essential oils, *J. Agric. Food chem.*, 52 7862-7866.
- Cecchini, T. and Ticli, B. (2004) Encyclopédie des Plantes Médicinales Edition de Vecchi S.A., p127-128 (351p).
- Damayanti, A. and Satyawan, E. (2012) Essential Oil Extraction of Fennel Seed (*Foeniculum vulgare*) Using Steam Distillation, *Int. J. Sci. Eng.*, 3(2) 12-14.
- Damjanovic, B., Lepojevic, Z., Zivkovic, V. and Tolic, A. (2005) Extraction of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds with supercritical CO₂: comparaison with hydrodistillation, *Food Chem.*, 92 143-149.
- Diao, W.R., Hu, Q.P., Zhang, H. and Xu, J.G. (2014) Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.), *Food control.*, 35 109-116.

- Diaz-Maroto, M.C., Diaz-Maroto, H.I.J., Sanchez-Palomo, E. and Pérez-Coello, M.S. (2005) Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous distillation-extraction and supercritical fluid extraction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 5385-5389.
- Diaz-Maroto, M.C., Pérez-Coello, M.S., Esteban, J. and Sanz, J. (2006) Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from central Spain, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54 6814-6818.
- Ebadollahi, A. (2013) Plant Essential Oils from Apiaceae Family as alternatives to conventional Insecticides, *Ecologia Balkanica*, 5 Issue 1.
- El-Soud, N.A., EL-Laithy, N., EL-Saeed, G., Wahby, M.S., Khalil, M. and Morsy, F. (2011) Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare* Mill. Essential oil in streptozotocin induced diabetic rats, *Macedonian Journal Medical Sciences*, 173 1857-5773.
- Guillén, M.D., Manzanos, M.J. (1996) A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest, *Food International*, 29 85-88.
- Kutukoglu, F., Girisgin, A.O. and Aydin, L. (2012) Varroacidal efficacies of essential oils extracted from *lavandula officinalis*, *Foeniculum vulgare*, and *laurus nobilis* in naturally infested honeybee (*Apis mellifera* L.) colonies, *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 36(5) 554-559.
- Lahhit, N., Bouyanzer, A., Desjobert, J.M., Hammouti, B., Salghi, R., Costa, J., Jama, C., Bentiss, F. and Majidi, L. (2011) Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Essential Oil as Green Corrosion Inhibitor of Carbon Steel in Hydrochloric Acid Solution, *Portugaliae Electrochimica Acta*, 29(2) 127-138.
- Lee, S.H. (2004) Acaricidal activity of constituents identified in *foeniculum vulgare* fruit oil against *Dermatophagoides* spp. (Acari : Pyroglyphidae), *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 52 2887-2889.
- Mimica-Duki, N., Kujund, S., Sokovi, M. and Couladis, M. (2003) Essential Oil Composition and Antifungal Activity of *Foeniculum vulgare* Mill. Obtained by Different Distillation Conditions, *Phytotherapy Research*, 17 368-371.
- Napoli, E.M., Curcuruto, G. and Ruberto, G. (2010) Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel, *Biochemical Systematics and Ecology*, 38 213-223.
- Özbek, H., Ugras, S., Dülger, H., Bayram, I., Tuncer, I. and Öztürk, G. (2003) Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil, *Fitoterapia*, 74 317-319.
- Ozcan, M.M., Chalchat, J.C., Arslan, D., Ates, A. and Unver, A. (2006) Comparative essential oil composition and antifungal effect of bitter fennel (*Foeniculum vulgare* ssp. *Piperitum*) fruit oil obtained during different vegetation, *Journal Medicinal Food*, 9 552-561.
- Remmal, A., Bouchikhi, T., Rhayour, K., Ettayebi, M. and Tantaoui-Elaraki, A. (1993) Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium, *J. Essent. Oil Res.*, 5(2) 179-184.
- Ruberto, G., Baratta, M.T., Deans, S.G. and Dorman, H.J.D. (2000) Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils, *Planta Medica*, 66 687-693.
- Satrani, B., Farah, A., Fechtal, M., Talbi, M., Blaghen, M. and Chaouch, A. (2001) Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Satureja calamintha* et *Satureja alpina* du Maroc, *Ann. Falsif. Expert. Chim. Toxicol.*, 94(956) 241-250.

- Telci, I., Demirtas, I. and Sahin, A. (2009) Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit during stages of maturity, *Ind. Crops Prod.*, 30 126-130.
- Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M. and Barocelli, E. (2007) Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis, *Pharmacological Research*, 56 254-260.
- Yamini, Y., Sefidkon, F. and Pourmortazavi, S.M. (2002) Comparaison of essential oil composition of Iranian Fennel (*Foeniculum vulgare*) obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods, *Flavour and Fragrance Journal.*, 17 345-348.