

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Dr. Moulay Tahar Saida

Faculté des Sciences

Département de Biologie

Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes



MEMOIRE ELABORE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER EN
BIOLOGIE

Option : Biochimie et Physiologie Cellulaire

Intitulé :

**L'aspect qualitatif et quantitatif des huiles essentielles et
des extraits de '*Pimpinella Anisum*' et '*Foeniculum
Vulgare*' selon les techniques : l'hydrodistillation et le
soxhlet**

Présenté par : Sidi Mohamed Dah

Ahmed Salem Bouhe

Soutenu le 26-06-2016

Devant le jury composé de :

Mr Benali Omar	Professeur	U de Saida	Président
M ^{elle} Chikhi Amira	Maitre-assistant «A»	U de Saida	Examinatrice
Dr Kahloula Khaled	Maitre de conférences «A»	U de Saida	Encadreur

Année Universitaire : 2015-2016

Remerciement

Nous remercions notre créateur ALLAH, Grand et Miséricordieux, Le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mené ce travail à terme.

Nous tenons à remercier d'abord **Pr. Benali** d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'il trouve ici toutes nos expressions les plus respectueuses.

Nous tenons également à exprimer notre grande considération et notre profond respect à **Melle Chikhi** d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail, malgré toutes ses responsabilités et ses nombreuses occupations. Vous trouvez ici toutes nos expressions les plus respectueuses.

Nous exprimons aussi notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements au **Dr. Kahloula.K** qui nous a honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire. Nous ne pouvons, Monsieur, que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.

Nos vifs remerciements vont également à nos co-encadreurs **Melle Taïbi Narimane** et **Melle Arabi Wafaa** pour leurs aides et leurs conseils.

Enfin, nos sentiments de reconnaissance vont à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour ses encouragements, sa tendresse, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie.

A mon cher père, pour son soutien, son aide, sa compréhension, sa patience et son encouragement durant toutes mes années d'étude et qui sans lui rien n'aurait été possible.

A mes chers oncles et tantes.

A mon cher frère et mes chères sœurs.

A mon cher ami et binôme Bouhe Ahmed Salem.

A mes amis, Abdoullah Ahmed Salem et Mehnane Khaled Jamal Eddin.

A tous les étudiants mauritaniens à l'université de Saida.

A tous mes collègues de promotion Master « Biochimie et physiologie cellulaire ».

A tous mes professeurs qui m'ont enseigné et à tous ceux et celles qui me sont chers.

Dah

Dédicace

Je dédis ce mémoire à ma chère mère, qui m'a encouragé à aller de l'avant et qui m'a donné tout son amour pour continuer mes études. Ce travail est le vôtre.

A la mémoire de ma grande mère qui nous a quitté voilà 8 ans.

Une spéciale dédicace va aussi à mon cher père et à mon cher frère Mohamed Yahya El-Mehdi pour leur patience et soutien pendant toute cette période de ma vie.

A mes chers Tantes et Oncles, et à mes chers professeurs qui m'ont guidé au cours de toute ma vie scolaire.

A mon cher ami et binôme Dah Sidi Mohamed et à mes chers amis de la promotion Abdalla Ahmed Salem et Khaled Mehnan Djemal Dine, mes sincères affections et gratitude.

A mes chers amis et à tous les collègues Algériens et Mauritanien avec lesquels j'ai partagé des moments de joie et de bonheur.

Je tiens aussi à témoigner ma reconnaissance et ma gratitude à tout ceux ou celles qui m'ont encouragé et soutenu, de près ou de loin, afin de réaliser ce modeste travail.

Bouhe

Liste des abréviations :

AFNOR : Association Française de Normalisation

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse

DPPH : 2,2-diphényl-1-picryle-hydrazyle

E : isomère trans

eV : électron-volt

FID : détecteur à l'ionisation de flamme

F. vulgare : Foeniculum vulgare

HE : Huile Essentielle

HPLC : Chromatographie en Phase Liquide à Haute Performance

I : indice de la mousse

IC50 : Concentration correspondant à 50 % d'inhibition.

Na⁺/K⁺ : ion sodium / ion potassium

Pc : pression critique

R : rendement

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

Tc : température critique

Z : isomère cis

Résumé

L'objectif de ce travail est d'évaluer et comparer les huiles et les extraits de deux plantes de la région de Saida-Algérie largement connues dans le domaine agro-alimentaire et médicinal, à savoir le *pimpinella anisum* et le *foeniculum vulgare* en fonction de leur rendement, de leur teneur en composés phytochimiques, de leur activité anti-oxydante et de leur composition chimique.

Les résultats relatifs aux rendements ont révélé que le *pimpinella anisum* possède un rendement plus important que celui du *foeniculum vulgare*, en huile (1,386% pour l'anis ; 0,419% pour le fenouil) et en extrait (5,72% pour l'anis ; 4,82% pour le fenouil). Vu l'élévation des rendements en extraits méthanolique et hexanolique par rapport aux huiles, la technique du soxhlet est considérée comme étant plus rentable que l'hydrodistillation.

Par ailleurs, les données enregistrées pour le test DPPH ont montré que le *foeniculum vulgare* est doué d'un pouvoir antioxydant plus fort que celui du *pimpinella anisum*, en huile (IC₅₀ : 5,196 mg.ml⁻¹ pour le fenouil ; 5,484 mg.ml⁻¹ pour l'anis) et en extrait (IC₅₀ : 1,076 mg.ml⁻¹ pour le fenouil ; 1,879 mg.ml⁻¹ pour l'anis).

Enfin, à l'issue de l'analyse CPG/SM, le trans-anéthol s'avère être le composant dominant dans les deux plantes (55,44% dans l'huile et 86,43% dans l'extrait d'anis ; 34,79% dans l'huile et 67,80% dans l'extrait du fenouil). De plus, la richesse du *foeniculum vulgare* en composés chimiques (21 composés) comparé au *pimpinella anisum* (17 composés) est remarquable.

Mots clés : *pimpinella anisum* - *foeniculum vulgare* – hydrodistillation – soxhlet – DPPH - CPG/SM.

Abstract

The objective of this work is to estimate and to compare oil and extracts of two plants of the region of Saïda-Algeria widely known in the agri-food and medicinal domain, which are *pimpinella anisum* and *foeniculum vulgare* according to their productivity, their content in phytochemical compounds, their antioxidant activity and their chemical composition.

The results relative to the productivity revealed that the *pimpinella anisum* is more productive than the *foeniculum vulgare*, in oil (1,386% for anise ; 0,419% for fennel) and extract (5,72% for anise ; 4,82% for fennel). Having regard to the rise of the productivity in methanolic and hexanolic extracts compared with the oil, the technique of soxhlet apparatus is considered as being more profitable than the hydrodistillation.

Moreover, the results of the DPPH test have showed that *foeniculum vulgare* has an antioxidant power stronger than *pimpinella anisum*, in oil (IC50 : 5,196 mg.ml⁻¹ for fennel ; 5,484 mg.ml⁻¹ for anise) as in extract (IC50 : 1,076 mg.ml⁻¹ for fennel ; 1,879 mg.ml⁻¹ for anise).

Finally, on the basis of the results of the CPG /MS, the trans-anéthol turns out to be the dominating component in both plants (55,44% in oil and 86,43% in extract of anise ; 34,79% in oil and 67,80% in extract of fennel). Furthermore, the abundance of chemical compounds (21 compounds) in *foeniculum vulgare* compared to *pimpinella anisum* (17 compounds) is also notable.

Key words : *Pimpinella anisum* - *foeniculum vulgare* – hydrodistillation - soxhlet apparatus – DPPH - CPG/MS.

ملخص

الهدف من هذا العمل تقييم و مقارنة زيوت و مستخلصات نبتتين معروفتين في مجال صناعة الأغذية و المجال الطبي، يتعلق الأمر بالأنيسون و الشمر من ولاية سعيدة-الجزائر، من خلال مردوبيتهما، نسبة و نوعية المكونات الفيتوكيميائية الخاصة بهما، إضافة إلى نشاطهما المضاد للأكسدة.

لقد أبرزت النتائج المتعلقة بالعائدات أن الأنيسون يمتلك عائدا من الزيوت (٣٨٦،١ في المئة بالنسبة للأنيسون و ٤١٩،٠ في المئة بالنسبة للشمر) و المستخلصات (٥٧٢،٥ في المئة بالنسبة للأنيسون و ٤٨٢،٤ في المئة بالنسبة للشمر) أكبر من الشمر.

هذا و نظرا للارتفاع الملحوظ لعائدات المستخلصات الميثانولية و الهكسانولية مقارنة بالزيوت الأساسية، فان تقنية الاستخراج بجهاز السوكسلت أفضل من نظيرتها بالتقطير بالبخار.

في المقابل، برهنت نتائج اختبار " دى بى بى هاش " (2.2-فينيل-1-بيكريل-هيدرازيل) أن نشاط الشمر المضاد للأكسدة أقوى من نشاط الأنيسون في الزيت (ت.م ٥٠ : ٥٠١٩٦ مغ.مل^١ بالنسبة للشمر و ٥٤٨٤،٥ مغ.مل^١ بالنسبة للأنيسون) كما في المستخلص (ت.م ٥٠ : ١٠٧٦،٠ مغ.مل^١ بالنسبة للشمر و ١٨٧٩،١ مغ.مل^١ بالنسبة للأنيسون).

في النهاية، على ضوء نتائج التحليل بجهاز الاستشراب الغازي المزود بمطياف كتلة تبين أن الترانس-أنيثول هو المكون الأساسي لكلتا النبتتين (٥٥،٤٤ في المئة في زيت و ٨٦،٤٣ في المئة في مستخلص الأنيسون ، ٣٤،٧٩ في المئة في زيت و ٦٧،٨٠ في المئة في مستخلص الشمر). إضافة إلى أن غناء الشمر بالمكونات الكيميائية (٢١ مكونا) مقارنة بالأنيسون (١٧ مكونا) يبدو جليا.

الكلمات المفتاحية : الأنيسون – الشمر – التقطير بالبخار – جهاز السوكسلت - دى بى بى هاش - جهاز الاستشراب الغازي المزود بمطياف.

Table des matières :

Revue Bibliographique.....	15
Avant propos :	16
I. <i>Pimpinella anisum</i> :	17
1. Historique :	17
2. Classification :	17
3. Localisation géographique :	18
4. Description Botanique :	18
5. Composition chimique :	19
6. Phytochimie :	20
7. Utilisation dans la médecine naturelle :	20
8. Utilisation dans la cuisine :	21
9. Toxicité :	21
9.1. Toxicité aiguë :	21
9.2. Toxicité chronique :	22
10. Effets pharmacologiques :	22
II. <i>Foeniculum vulgare</i> :	25
1. Introduction :	25
2. Description morphologique :	25
3. Classification botanique :	26
3.1. <i>Foeniculum vulgare subsp piperitum</i> :	26
3.2. <i>Foeniculum vulgare subsp vulgare</i> :	27
4. Localisation géographique :	28
5. Phytochimie du <i>Foeniculum vulgare</i> :	28
6. Propriétés et Usages :	28
7. Culture botanique :	29
8. Utilisation dans la médecine naturelle :	29
9. Utilisation dans la cuisine :	30
III. Les huiles essentielles :	32
1. Définitions :	32
2. Localisation et rôles des huiles essentielles chez les végétaux :	32
3. Production des huiles essentielles :	33
4. Localisation et lieu de synthèse :	33
5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles :	34

5.1. Facteurs extrinsèques :	34
5.2. Facteurs intrinsèques :	35
6. Huile essentielle de <i>Pimpinella anisum L</i> :	35
7. Huile essentielle de <i>Foeniculum vulgare</i> :	36
IV. Méthodes d'extraction :	39
1. Principaux paramètres d'extraction :	39
2. Paramètres influençant l'extraction :	40
2.1. Matière végétale :	40
2.2. Nature et état du solide et du soluté :	41
2.3. Nature, concentration et volume du solvant :	42
2.4. Méthode, durée, température et pression :	42
3. Techniques conventionnelles d'extraction :	42
3.1. Distillation et évaporation :	42
3.2. Rectification (Distillation fractionnée) :	42
3.3. Distillation sèche :	43
3.4. L'enfleurage :	43
3.5. Extraction au CO ₂ supercritique :	43
3.6. L'hydrodiffusion :	44
3.7. L'hydrodistillation :	45
3.8. Soxhlet :	46
Matériel et Méthodes	48
1. L'huile essentielle :	49
1.1. Matériel végétal :	49
1.2. Procédé d'extraction :	50
1.2.1. L'hydrodistillation :	50
1.2.1.1. Procédé d'expérimentation :	50
1.2.1.2. Décantation :	51
1.2.2. Soxhlet :	52
1.2.2.1. Evaporation :	54
2. Calcul de rendement:	55
3. Analyse quantitative :	55
3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG /SM) :	55
3.1.1. Principe :	55
3.1.2. La spectrophotométrie de masse :	55
3.1.3. Mode opératoire :	56

3.2. Préparation des échantillons analysés par la CPG :.....	56
4. Décoction :	57
4.1. Principe :.....	57
4.2. Mode opératoire :	57
5. Analyse qualitative :.....	57
5.1. Etude phytochimique :.....	57
5.1.1. Différentes classes recherchées :	57
5.1.1.1. Les tannins :.....	57
5.1.1.2. Les flavonoïdes :.....	58
5.1.1.3. Les anthocyanes :	58
5.1.1.4. Les coumarines :.....	58
5.1.1.5. Les alcaloïdes :	58
5.1.1.6. Stérols et triterpènes :.....	58
5.1.1.7. Les saponosides :.....	59
5.1.1.8. Les composés réducteurs :.....	60
5.1.1.9. L'amidon :	60
6. Etude de l'activité anti-oxydante :.....	60
6.1. Piégeage du radical DPPH :	61
6.1.1. Principe :.....	61
6.1.2. Mode opératoire :	61
Résultats et	63
Interprétations	63
1. Détermination du rendement :	64
1.1. Rendement de <i>Pimpinella Anisum</i> :.....	64
1.2. Rendement de <i>Foeniculum Vulgare</i> :.....	65
2. Analyse phytochimique :.....	67
3. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de <i>Pimpinella anisum</i> et de <i>Foeniculum vulgare</i> :.....	68
4. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits par CPG/MS :	72
Discussion	79
Conclusion.....	83
Références bibliographiques:	86

Liste des figures :

Figures	Contenu	Page
Figure 01	Fleurs de <i>Pimpinella anisum L</i>	18
Figure 02	Fruits de <i>Pimpinella anisum L</i>	19
Figure 03	Les principaux constituants des fruits du <i>Pimpinella anisum. L</i>	20
Figure 04	<i>Foeniculum vulgare Mill.</i>	26
Figure 05	<i>Foeniculum vulgare subsp piperitum</i>	27
Figure 06	<i>Foeniculum vulgare subsp vulgare</i>	27
Figure 07	Les structures moléculaires des composants majeurs bioactifs dans l'huile essentielle du <i>Foeniculum vulgare</i>	29
Figure 08	Principales opérations industrielles d'extraction	40
Figure 09	L'ancienne technique d'enfleurage	43
Figure 10	Méthode d'extraction par CO ₂ supercritique	44
Figure 11	Le procédé d'hydrodiffusion	45
Figure 12	Montage d'hydrodistillation	46
Figure 13	Appareil du soxhlet	47
Figure 14	Graines sèches de l'anis vert	49
Figure 15	Graines sèches du fenouil	50
Figure 16	Hydrodistillateur	51
Figure 17	Ampoules à décanter	52
Figure 18	Appareil du soxhlet	53
Figure 19	L'Appareil évaporateur rotatif (à gauche) et l'extrait sec (à droite)	54
Figure 20	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.	56
Figure 21	Mécanisme d'action d'un antioxydant	61
Figure 22	Rendement en huile essentielle du <i>pimpinella anisum</i> en fonction du temps	64
Figure 23	Rendement en extrait méthanolique du <i>pimpinella anisum</i> en fonction du nombre des cycles.	65
Figure 24	Rendement en huile essentielle du <i>foeniculum vulgare</i> en fonction du temps.	65
Figure 25	Rendement en extrait hexanolique du <i>foeniculum vulgare</i> en fonction du nombre des cycles	66
Figure 26	Histogrammes représentant les rendements des deux plantes en huiles et en extraits	67

Figure 27	Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en huile essentielle de <i>pimpinella anisum</i> .	69
Figure 28	Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en huile essentielle de <i>foeniculum vulgare</i>	70
Figure 29	Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait méthanolique de <i>pimpinella anisum</i>	71
Figure 30	Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait méthanolique de <i>foeniculum vulgare</i>	71
Figure 31	Pourcentage de différents composants de l'huile essentielle de <i>pimpinella anisum</i>	73
Figure 32	Pourcentage de différents composants de l'extrait méthanolique de <i>pimpinella anisum</i>	73
Figure 33	Pourcentage de différents composants de l'huile essentielle de <i>foeniculum vulgare</i>	74
Figure 34	Pourcentage de différents composants de l'extrait hénanolique de <i>foeniculum vulgare</i>	74

Liste des tableaux :

Tableaux	Contenu	Page
Tableau 01	Position systématique de <i>Pimpinella anisum</i>	17
Tableau 02	Les effets pharmacologiques du <i>Pimpinella anisum</i>	22
Tableau 03	Les composants majeurs de <i>Pimpinella anisum</i> , leurs propriétés et leur usage	36
Tableau 04	Les composants majeurs de <i>Foeniculum vulgare</i> , leurs structures et leurs effets pharmacologiques	37
Tableau 05	Tableau récapitulatif des volumes récupérés et le temps pris par chaque cycle du soxhlet	53
Tableau 06	Résultats du screening phytochimique pour neuf composés phytochimiques chez l'anis vert et le fenouil	68
Tableau 07	Concentrations d'inhibition des extraits méthanoliques et des huiles essentielles des graines de <i>Pimpinella anisum</i> et de <i>Foeniculum vulgare</i>	69
Tableau 08	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>pimpinella anisum</i>	75
Tableau 09	Composition chimique de l'extrait méthanolique de <i>pimpinella anisum</i>	75
Tableau 10	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>foeniculum vulgare</i>	76
Tableau 11	Composition chimique de l'extrait hexanolique de <i>foeniculum vulgare</i>	77

**Revue
Bibliographique**

Avant propos :

Les plantes aromatiques et médicinales connues par leurs propriétés biologiques intéressantes sont utilisées dans divers domaines à savoir en médecine, en pharmacie, en cosmétologie et en agriculture (**Jdidi, 2015**).

Les activités biologiques de ces plantes sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés sont dues essentiellement à la fraction d'huile essentielle et aux composés phénoliques contenues dans les plantes (**Abdelrazeg, 2013**).

Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (**Bakkali et al., 2008 ; Tajkarimi et al., 2010**).

Les huiles essentielles ont suscité beaucoup d'intérêt scientifique dû au fait qu'elles présentent une source importante de molécules biologiquement actives. Pour cette raison, l'étude des activités biologiques des substances issues des plantes en vue de leurs applications à la santé humaine demeure une tâche intéressante et utile (**Dung et al., 2008**).

Ce travail a pour objectif de déterminer l'aspect qualitatif et quantitatif des huiles essentielles et des extraits de l'anis vert et fenouil selon certaines méthodes d'extraction et d'évaluer leur pouvoir antioxydant.

Notre travail sera donc réparti en trois chapitres, initié par une recherche bibliographique succincte de la biologie des plantes utilisées à savoir anis vert et le fenouil, les différentes méthodes d'extraction ainsi que les propriétés thérapeutiques des huiles. Notre thématique est concrétisée par un volet expérimental qui refferme l'extraction, le screening phytochimique des plantes et le pouvoir antioxydant.

I. *Pimpinella anisum* :

1. Historique :

L'anis vert ou *Pimpinella anisum* est cultivée en Egypte (depuis 4000 ans), au Proche-Orient et en Espagne pour ses qualités médicinales et culinaires : des textes médicaux anciens mentionnent l'utilisation des graines d'anis (**Citerne et al., 2002**).

L'édit de Charlemagne au 9^{ème} siècle après J-C – chaque herbe cultivée dans le cloître de Saint-Gall devait l'être également sur toutes les terres qu'il administrait – a entraîné une large diffusion de l'anis dans toute l'Europe. Au Royaume-Uni d'Angleterre, l'anis était tellement précieux qu'il était frappé d'un impôt. Les marins et futurs colons amenèrent l'anis jusqu'en Amérique, où les Shakers continuèrent de le cultiver dans des jardins spéciaux pour plantes médicinales et liées à des superstitions (**Brigitte et al., 2008**).

2. Classification :

Tableau 01 : Position systématique de *Pimpinella anisum* (**Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003**).

Règne	<i>Plantae</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i> (Ombellifères)
Genre	<i>Pimpinella</i>
Nom binominal	<i>Pimpinella anisum</i> L., 1753

3. Localisation géographique :

L'anis vert est originaire de la région méditerranéenne orientale et d'Asie occidentale, il est principalement cultivé en Turquie, Espagne, Hongrie, Liban et Égypte (Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003).

4. Description Botanique :

Cette plante est classée comme herbacée annuelle de 20 à 50 cm de haut, à racine fuselée et à tiges cylindriques, creuses, finement striées et ramifiées au sommet. Les feuilles de couleur vert pâle, sont alternes et à base engainante : les feuilles basales sont composées de folioles cordiformes et lobées ; celles du milieu sont allongées et dentées et les supérieures sont plus petites, rudimentaires et trifides. L'inflorescence est formée d'ombelles composées, comprenant de 7 à 15 rayons et dépourvues de bractées. Les fleurs sont petites, blanches, radiales, actinomorphes formées de 5 sépales sans limbe, de 5 petits pétales égaux, de 5 étamines saillantes et d'un ovaire infère bicarpellaire à 2 loges (figure 01). Le fruit est un diakène comprimé au niveau de la face dorsale. À maturité les deux méricarpes se détachent l'un de l'autre (figure 02) (Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003).



Figure 01 : Fleurs de *Pimpinella anisum* L



Figure 02 : Fruits de *Pimpinella anisum L*

5. Composition chimique :

Les fruits sont constitués de (1,5 à 6%) d'huile essentielle, avec comme principaux constituants le *trans*-anéthol (80 à 95%), l'estragole ou méthylchavicol (1 à 4%), le pseudo-isogényl-2-méthylbutyrate (1 à 3,5%), l'époxy-pseudoisogényl-2-méthylbutyrate (0,1 à 1,3%), l'anisaldéhyde (0,5 à 0,9%) et le *cis*-anéthol (0,3 à 0,4%) (figure 03). L'huile essentielle est riche en *trans*-anéthol dont une faible proportion peut se dimériser par métabolisation en diéthylstilboestrol induisant une action oestrogénique. L'administration de fortes proportions d'anis ou de son huile essentielle doit donc être évitée chez la femme enceinte. Plusieurs autres constituants figurent parmi les composants du fruit de *Pimpinella anisum L* tels que : les acides phénylacryliques (dérivés d'acide caféique), les acides caféoylquiniques, les flavonoïdes, les furanocoumarines, le bergaptène, les hydroxycoumarines, l'ombelliférone et les lipides (≈30%) (Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003).

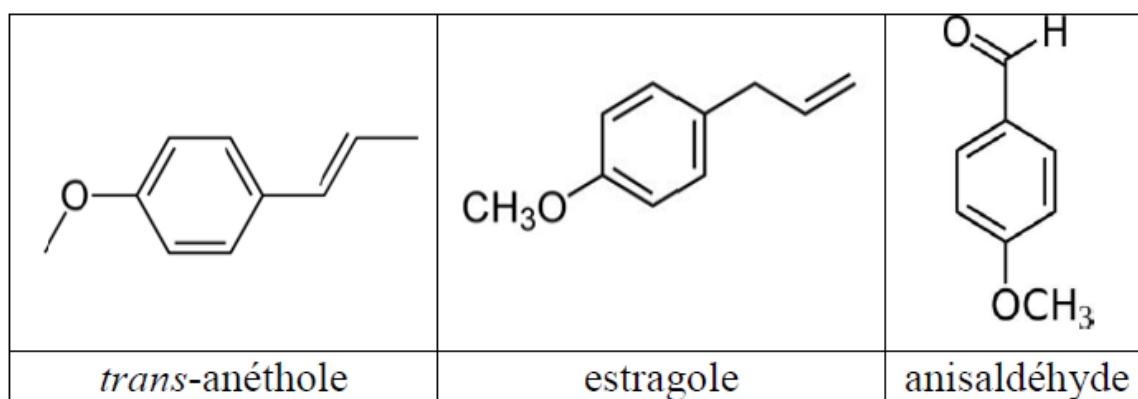


Figure 03 : Les principaux constituants des fruits du *Pimpinella anisum. L*

6. Phytochimie :

L'anis comprend 1.5- 6 % en masse d'huile volatile composée principalement de *trans*-anéthol et aussi bien 8-11 % en masse des lipides riches en acides gras, comme l'acide palmitique et oléique, aussi bien qu'environ 4 % en masse de glucides et 18 % en masse de protéines (**Besharati-Seidani et al., 2005**).

D'autres études ont montré la présence d'eugénol, *trans*-anéthol, methylchavicol, anisaldéhyde, estragole, coumarines, scopoletin, umbelliférone, estrols, hydrocarbures de terpène, polyènes et polyacétylènes comme composés majeurs de l'huile essentielle des graines d'anis (**Gulcin et al., 2003**).

7. Utilisation dans la médecine naturelle :

L'anis a des propriétés expectorantes et est utilisé en usage interne contre les infections de la gorge, les cystites, la goutte et une production insuffisante de lait.

En usage externe, l'anis apaise les inflammations des gencives et toutes sortes de plaies. L'huile d'anis est également utilisée dans les parfums et de nombreux masques cosmétiques pour le visage et savons renferment les substances précieuses de l'anis (**Brigitte et al., 2008**).

De nombreuses vertus médicinales sont attribuées à l'anis: une infusion de ses graines ou de quelques gouttes de son huile essentielle peuvent être prescrites pour soigner de nombreux troubles gastriques et intestinaux. De plus, on le décrit comme

diurétique, stimulant, galactogène, apéritif, antivenimeux (contre le venin de scorpion) et aphrodisiaque (Citerne et al., 2002).

8. Utilisation dans la cuisine :

Les graines d'anis sont le plus fréquemment utilisées dans la fabrication de spiritueux comme l'absinthe, le raki ou le pastis. Les graines écrasées servent en outre à confectionner du pain, des crèmes et autres sucreries. Les Romains employaient déjà l'anis dans la pâtisserie, pour préparer des gâteaux et biscuits particuliers que l'on servait à l'occasion des festivités – et il en resté ainsi jusqu'à nos jours. Mais les feuilles fraîches sont elles aussi utilisées dans les salades, potages et plats au curry. On se sert également des feuilles filiformes de l'anis écrasées pour les sauces ou des légumes comme les concombres, les chou-rouges et les carottes. Après un repas de fête copieux, il est recommandé de mâcher des graines d'anis légèrement grillées pour faciliter la digestion (Brigitte et al., 2008).

9. Toxicité :

L'huile essentielle d'anis absorbée par voie orale peut entraîner une modification du système nerveux central à type d'hypnotique faible et anticonvulsivant due à sa concentration en *trans*-anéthole. L'isomère *cis* ou (*Z*) de l'anéthole est neurotoxique. La dose maximale journalière recommandée par voie orale est de 2,5 mg/kg. Chez l'animal, l'absorption de fortes doses d'estragole, provoque une hépatotoxicité et/ou une hépatocarcinogénèse. Cependant, la concentration de l'anis en estragole reste faible et ces effets n'ont été observé que chez l'animal et sont quasi-inexistants chez l'homme si les posologies sont respectées. L'anis peut entraîner des réactions allergiques occasionnelles de la peau, des voies respiratoires et du tractus gastro-intestinal (Girre, 2006 ; Teuscher et al., 2005 ; Wichtl et Anton, 2003).

9.1. Toxicité aigue :

La dose mortelle orale de l'huile essentielle d'anis est dans la gamme de 50 à 500 mg/kg du poids corporel chez les êtres humains (Gosselin et al., 1984), 1,8-5,0 g chez les souris et 2,16 g chez les cochons d'Inde (Lin, 1991).

L'administration orale du *trans*-anéthol aux femelles de rats adultes au cours du 1^{er}-10 jour de la grossesse a montré un effet d'anti-implantation dose-dépendant.

D'autre part chez des animaux témoins, le trans-anéthol administré à 50, 70 et 80 mg/kg du poids corporel a inhibé l'implantation respectivement par 33%, 66% et 100% (Dhar, 1995).

9.2. Toxicité chronique :

Pendant 90 jours d'expériences sur des rats, l'introduction de 0,1% de trans-anéthol dans leur régime alimentaire n'a induit aucun effet toxique. Cependant un œdème de foie s'est apparu avec des doses de 0,3 et 3,0% (Lin, 1991).

10. Effets pharmacologiques :

Pimpinella anisum est une des plantes médicinales qui ont été utilisées pour des buts différents dans la médecine traditionnelle. De différentes études ont été réalisées sur les extraits et l'huile essentielle de *pimpinella anisum* pour identifier les composés chimiques et les propriétés pharmacologiques de cette plante. Plusieurs effets comme ; l'effet antimicrobien, antimycosique, antiviral, antioxydant et l'effet insecticide ont été rapportés à l'anis. Des découvertes récentes ont aussi révélées que l'anis peut causer une protection gastrique, une myorelaxation et une affection du système digestif.

Tableau 02 : Les effets pharmacologiques du *pimpinella anisum*.

Système	Effet	Préparation
Micro-organisme	antibactérien	Extrait aqueux 50% (v/v), extrait méthanolique (Akhtar et al., 2008) Extrait éthanolique (Gulcin et al., 2003 ; Ates et Erdogrul , 2003) Huile essentielle et extrait méthanolique (mélangé avec <i>Thymus vulgaris</i>) (Al-Bayati , 2008) Solution de décoction (Chaudhry et Tariq , 2006) Huile essentielle (Zcan et Chalchat , 2006 ; Shukla et Tripathi , 1987)
	Antifongique	Extrait fluide (Kosalec et al., 2005) Extrait méthanolique (Yazdani et al., 2009) Huile essentielle (Park et al., 2006 ; Lee , 2004)

	Insecticide	p-anisaldhéyde des graines d'anis (Lee , 2004) <i>Huile Essentielle (Shukla , 1989)</i>
	Anti-viral	Complexe de lignine-hydrate de carbone extrait de l'eau chaude chaude (Lee et al., 2011)
Muscle	Myorelaxant de chaînes trachéales	Extrait aqueux Extrait ethanologique Huile essentielle (Boskabady et Ramazani-Assari , 2011)
	Antispasmodique	Extrait hydro-alcoolique (70% éthanol) (Tirapelli et al., 2007)
Système nerveux	Anticonvulsivant	Huile essentielle (Pourgholami et al., 1999) Extrait méthanolique de graines (Heidari et Ayeli , 2005) Extrait aqueux des feuilles et des tiges (Abdul-Ghani et al., 1987)
	Analgésique	Huile essentielle (Twaij et al., 1988) Huile fixée (Tas , 2009)
Système digestif	Anti-ulcéreux	Suspension aqueuse (Al Mofleh et al., 2007)
	Atténuation des nausées	Huile essentielle des graines de l'anis, du <i>F. Vulgare</i> , de l' <i>Anthemis nobilis</i> et de <i>Mentha piperita</i> (Gilligan , 2005)
	Laxatif	Mélange phytothérapique de l'Anis du <i>Foeniculum vulgar</i> , <i>Sambucus nigra</i> , <i>Cassia angustifoli</i> (Picon et al., 2010)
	Augmentation de l'absorption du glucose au niveau du jéjunum.	Huile essentielle (Kreydiyyeh et al., 2003)
Rénal	Augmentation de l'activité Na ⁺ /K ⁺	Huile essentielle (Kreydiyyeh et al., 2003)

	ATPasique	
Endocrinien	Anti-diabétique Hypolipidémique	Graines en poudre (Rajeshwari et al., 2011)
Système immunitaire	Antioxydant	Extrait ethanologique (Gulcin et al., 2003 ; Rajeshwari et al., 2011 ; Al-Ismail et Aburjai , 2004) Solution d'eau (Gulcin et al., 2003 ; Al-Ismail et Aburjai , 2004) Huile essentielle (Singh et al., 2008) Oléorésine (Singh et al., 2008) Fraction de l'éthyle acétate de l'extrait ethanologique (Nickavar et Abolhasani , 2009) Thé de l'Anis (Speisky et al., 2006)
	β -carotène, vitamines A,C	Graines en poudre (Rajeshwari et al., 2011)

II. *Foeniculum vulgare* :

1. Introduction :

Le fenouil est une herbe avec une grande histoire d'utilisations médicinale et culinaire (**Hendawy et al., 2010**). Le nom de *foeniculum* a été donné à cette plante par les Romains et est dérivé du mot latin *foenum*, c'est-à-dire herbe (**Kaur et Arora, 2010**). Il était bien connu aux anciens et a été cultivé par les Romains antiques pour ses graines aromatiques (**Vienna et al., 2005**). Le fenouil est communément appelé "besbes" par les populations locales. Ses huiles essentielles sont très utilisées par les industries pharmaceutique, cosmétique et également alimentaire (**Lazouni et al., 2007**).

2. Description morphologique :

Le fenouil, *foeniculum vulgare* Mill., est une plante médicinale, aromatique, vivace ou bisannuelle appartenant à la famille des Apiacées (Umbelliferaeae). Les feuilles plumeuses de 40cm de longueur sont divisées en segments filiformes (**Vienna et al. 2005**).

Les fleurs apparaissent en été (Août). Elles sont de couleur jaune et sont constituées de pétales à lobe arrondi et enroulés. Elles sont réunies en ombelles de 7 à 10 cm. Leur parfum est très anisé. Les tiges sont droites, feuilletées et unies de couleur jaune verdâtre et peuvent atteindre 2 m de longueur (**Vienna et al., 2005 ; Kaur et Arora, 2010**).

Le fruit est formé de deux akènes de 4 à 10 mm de longueur (**Diaaz-Maroto et al., 2006**), de 1 mm de largeur et à côtes saillantes (figure 04) (**Arvy et Gallouin, 2003**).



Figure 04 : *Foeniculum vulgare* Mill.

3. Classification botanique :

L'espèce *Foeniculum vulgare* Mill se divise en deux sous-espèces : *Subsp piperitum* et *Subsp vulgare* (Badoc et al., 1995 ; Vienna et al.,2005 ; EFSA, 2009). La sous espèce *vulgare* est présentée par 3 variétés (var *vulgare* : fenouil amer , var *dulce* : fenouil doux et var *azoricum* : fenouil bulbeux) (Amimar et al., 2001 ; Vienna et al., 2005 ; Kothe, 2008).

3.1. *Foeniculum vulgare subsp piperitum* :

C'est une plante vivace caractérisée par des graines amères (Diaaz-Maroto et al., 2006) . Elle est hémicryptophyte et peut atteindre 2 m de longueur. Cette plante, dont la floraison est entre juillet et septembre, est pollinisée par des insectes et disséminée par gravité. Cette sous espèce a une odeur aromatique caractéristique. Sa tige arrondie et assez grêle. Ses feuilles en lanières divariquées sont courtes et un peu épaisses. Ses petites ombelles sont brièvement pédonculées avec des rayons inégaux et courts renfermant des fleurs jaunes (figure 05). Ses fruits sont étroits (Rameau et al., 2008).



Figure 05 : *Foeniculum vulgare subsp piperitum.*

3.2. *Foeniculum vulgare subsp vulgare :*

Elle possède des graines dont leurs odeurs rassemblent à celle de l'anis. Ses graines sont lisses et utilisées comme aromatisants dans les produits de boulangerie et dans les boissons alcoolisées (**Diaaz-Maroto et al., 2006**). Cette sous espèce est très répandue. Sa morphologie est spécifique avec des feuilles divisées en segments allongés et des ombelles grandes de couleur jaune vive (figure 06) (**Bernath et al., 1996**).



Figure 06 : *Foeniculum vulgare subsp vulgare.*

4. Localisation géographique :

Cette plante est répandue dans la région méditerranéenne et en Europe Centrale (Vienna et al., 2005 ; Zahid et al.,2009 ; Aprotosoie et al., 2010). Elle pousse sur les sols calcaires. On la rencontre essentiellement au bord des Oueds (Rejeb et al., 2006). Elle est originaire de la Mésopotamie, du bassin méditerranéen et de l'Asie mineure (Brigitte et al., 2012).

5. Phytochimie du *Foeniculum vulgare* :

Le pourcentage d'humidité dans le *foeniculum vulgare* est de l'ordre de 6,3%. Le *foeniculum vulgare* contient 9.5 % de protéine, 10% de graisse, 13.4 % de minéraux, 18.5 % de fibre et 42.3% de glucides. Les minéraux et les vitamines présentent dans *foeniculum vulgare* sont : le calcium, le potassium, le sodium, le fer, le phosphore, le Thiamine, le riboflavine, l'acide nicotinique et la vitamine C (Rather et al., 2012).

6. Propriétés et Usages :

Le fenouil; *foeniculum vulgare* Mill, est une espèce très aromatique d'usage culinaire et médicinal (Diaaz-Maroto et al., 2006) . Elle est consommée comme aliment ou épice. Les graines du fenouil sont utilisées traditionnellement comme collyre pour les troubles visuelles. Elles sont également utilisées pour la stimulation de la lactation et pour le traitement des problèmes digestifs. En effet, elles améliorent la sécrétion des enzymes digestives et stimulent le tractus gastro-intestinal du péristaltisme au niveau de l'appareil digestif. Les graines du fenouil contiennent 2 à 6% d'huile essentielle. Elles contiennent aussi des acides organiques, des flavonoïdes et des polysaccharides (Khan et al, 2012).

7. Culture botanique :

A côté des variétés de fenouil cultivées principalement pour la production de thé et des graines (fenouil sauvage), on trouve également des espèces qui forment un bulbe et sont utilisées essentiellement comme légume (fenouil de Florence et fenouil bulbeux). Le fenouil se multiplie par semence, il a de temps à autre besoin d'être arrosé modérément. Le fenouil sauvage résiste bien au gel tandis que le fenouil de provence ou fenouil bulbeux préfère un climat plus doux. Le fenouil a besoin d'une manière générale d'un endroit bien ensoleillé pour se transformer en une plante solitaire splendide et imposante (**Brigitte et al., 2012**).

8. Utilisation dans la médecine naturelle :

On utilise les feuilles fraîches à partir du début de l'été, les graines venues à maturité vers la fin de l'été et les racines en automne. Le fenouil renferme de l'*anéthol* à l'arôme doux anisé ainsi que du *fenchone* et de l'*estragole* ; substances plutôt amères (figure 07). Il a une action diurétique, apaise les crampes d'estomac et les troubles digestifs et active la sécrétion du lait maternel. Utilisé en bain de bouche ou en gargarisme, le fenouil peut également apporter un soulagement rapide en cas de problèmes de gencives et de mal à la gorge grâce à ses propriétés anti-inflammatoires. L'huile essentielle du fenouil est utilisée pour parfumer les dentifrices, parfums et savons (**Brigitte et al., 2012**).

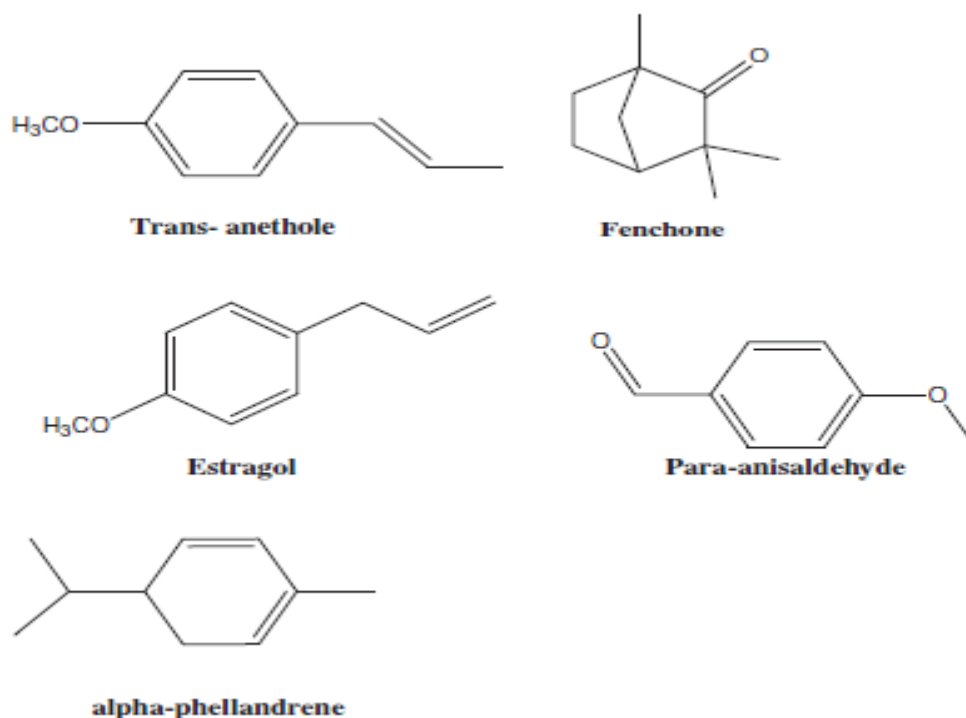


Figure 07 : Les structures moléculaires des composants majeurs bioactifs dans l'huile essentielle du *Foeniculum vulgare* (Rather et al., 2012).

9. Utilisation dans la cuisine :

Dans la cuisine, les feuilles mais aussi les graines du fenouil sauvage sont employées couramment, tout particulièrement pour différentes sortes de pain. Les pousses et les feuilles fraîches, finement hachées, utilisées avec parcimonie, donnent un goût délicat aux salades, aux crudités mais aussi aux plats de poisson. Les graines de fenouil servent en outre à assaisonner les sauces, les potages ainsi que la viande hachée. Mais le fenouil se marie aussi très bien avec les recettes méditerranéennes d'escargots ou d'olives. Le fenouil est également un aromate très prisé que l'on trouve dans le *finocchiona*, spécialité de salami italienne. On utilise en outre le fenouil dans la fabrication de quelques spiritueux pour en parfaire le goût. Les feuilles charnues et bien sûr aussi les bulbes du fenouil doux *foeniculum vulgare var dulce* peuvent être ajoutées crues, coupées en tranches, dans les salades ou préparées comme légume. Mais les graines et les feuilles fraîches permettent également de confectionner une tisane aromatique (Brigitte et al., 2012).

Le fruit du fenouil mûr et l'huile essentielle sont également utilisées comme des agents d'arôme dans des produits alimentaires comme pain, saumures, pâtisseries et fromage (Telci et al., 2009).

III. Les huiles essentielles :

1. Définitions :

Les huiles essentielles sont des substances organiques, liquides et aromatiques. On les trouve naturellement dans diverses parties de plantes. Selon la norme **AFNOR** (Association française de normalisation) (**NF T 75-006,2000**), les huiles essentielles sont «des produits obtenus à partir de matières naturelles végétales, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques». La **Commission de la Pharmacopée Européenne (2008)** a défini l'huile essentielle comme étant un «Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie ».

Actuellement, près de 3000 huiles essentielles sont décrites, parmi lesquelles environ 300 présentent une importance commerciale dans le cadre d'applications pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, agronomiques ou dans le domaine de la parfumerie (**Bakkali et al., 2008 ; Tajkarimi et al., 2010**).

2. Localisation et rôles des huiles essentielles chez les végétaux :

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1% (**Guignard, 1995**).

Les huiles essentielles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines. Elles permettent également aux plantes de s'adapter à leur environnement et à assurer leur défense. En effet, étant fixées au sol elles n'ont que les composés chimiques issus du métabolisme secondaire, stockés à l'endroit où ils seront les plus utiles comme arme de défense contre les parasites et les déprédateurs. Les plantes possédant ces composés toxiques, qualifiés d'inappétents sont moins consommées (**Houel, 2011**).

De façon générale, les terpénoïdes jouent un rôle fondamental dans les interactions contre les organismes vivants, permettant par exemple à une plante d'attirer les pollinisateurs, ou les prédateurs ou les parasitoïdes des herbivores venant l'attaquer (Gerhenzon et Dudarveva, 2007 ; Unsicker et Kunert, 2009). C'est en particulier ce dernier rôle qui donne toute son importance à une stratégie bioinspirée de recherche de composés antifongiques, antibactériens ou bioinsecticides parmi les métabolites secondaires, et en particulier les huiles essentielles (De Figueiredo et al., 2008).

3. Production des huiles essentielles :

A l'échelle mondiale, la production des huiles essentielles est d'environ 30 tonnes par an. Les principaux pays producteurs sont les Etats-Unis, La Chine, le Maroc, la Bulgarie, l'Inde, la France, l'Egypte et l'Espagne. L'Algérie se hisse à la 10^{ème} place avec 8000 dollars de capitaux générés par l'exportation d'huile essentielle, à la fin des années 70 (Tchoumboungang et al., 2009).

Djeddi (2012) affirme que les huiles essentielles exportées par l'Algérie provenaient soit des cultures familiales ou des plantes spontanées, tels que la menthe, le jasmin, le rosier, le géranium, la lavande, le romarin, l'origan, le thym, la sauge. Actuellement, la production d'huiles essentielles est limitée à quelques producteurs privés artisanaux qui ne subviennent pas au marché national.

4. Localisation et lieu de synthèse :

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires synthétisées et secrétées par les plantes aromatiques. La synthèse de ces huiles se fait par l'intermédiaire des structures histologiques spécialisées situées généralement sur la surface de la plante (les poils, les canaux et les poches sécrétrices) (Bruneton, 1993 ; Benazedine, 2010).

5. Facteurs de variabilité des huiles essentielles :

Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient d'une espèce à une autre. Cette variabilité peut être liée à des facteurs extrinsèques et intrinsèques.

5.1. Facteurs extrinsèques :

Les conditions environnementales notamment la température, la variation géographique, la période de la récolte, la lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques agissent sur la composition chimique des plantes aromatiques et médicinales (**Bruneton, 1999 ; Mohammad et al., 2009 ; Olle et Bender, 2010 ; Aprotosoie et al., 2010**).

Les conditions culturales telles que les techniques de récolte, la date de semis, l'emploi d'engrais, les traitements phytosanitaires influencent également la composition et le rendement des huiles essentielles (**Barry, 2001 ; Lahlou, 2004 ; Stefanini et al., 2006 ; Benini, 2007 ; Aprotosoie et al., 2010**).

Jouault (2012) a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- a) La sélection de la plante qui est tributaire du genre de l'espèce botanique ;
- b) Le chémotype (chimiotype) : représente les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique et de la photopériode ;
- c) La partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'huile essentielle ;

d) La période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;

e) La conservation des HEs : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants ;

La composition de l'huile essentielle fait preuve d'une diversité chimique qui dépend de méthodes d'extraction ainsi que de la source géographique de plante. L'accumulation des composés volatiles à l'intérieur de la plante est assez variable, apparue pratiquement dans toutes les parties de la plante ; à savoir dans les racines, la tige, les fleurs et les fruits (**Diaaz Maroto et al., 2006; Gross et al., 2009**).

Dans une étude il a été rapporté que le contenu d'huile essentielle et sa composition varient pendant les différentes étapes de maturation de *F. vulgare*. Ils ont montré également que l'huile diminue avec la maturité des fruits. Le contenu de trans-anéthol, le composant principal, variait entre (81.63 % et 87.85 %) (**Telci et al., 2009**).

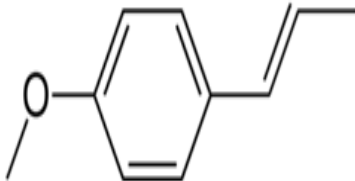
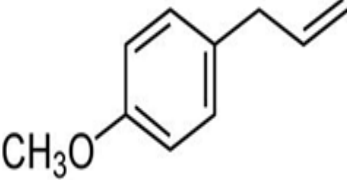
5.2. Facteurs intrinsèques :

Le stade végétatif (**Aprotosoie et al. 2010**), l'organe de la plante (**Chowdhury et al., 2009**), la mutation, l'hybridation, la polyploïdie (**Aprotosoie et al., 2010**) et les chimiotypes (**Belyagoubi, 2006**) sont parmi les facteurs intrinsèques qui interviennent dans la variabilité de la composition et le rendement des huiles essentielles.

6. Huile essentielle de *Pimpinella anisum L* :

Les fruits d'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) contiennent de l'huile essentielle. Celle-ci renferme de l'anéthol (90%) et de l'estragole ayant des propriétés stomachiques, carminatives et antispasmodiques. Les fruits d'anis vert entrent dans la composition de liqueurs : « les anisettes ». Ils sont également utilisés en confiserie et en parfumerie pour leur rôle d'aromatisant. C'était le cas de la spécialité « l'élixir parégorique » (ancien médicament antidiarrhéique à base d'opium). Il est à souligner que la délivrance de l'huile essentielle de l'anis est réglementée (**Teuscher et al., 2005**).

Tableau 03 : Les composants majeurs de *Pimpinella anisum*, leurs propriétés et leur usage.

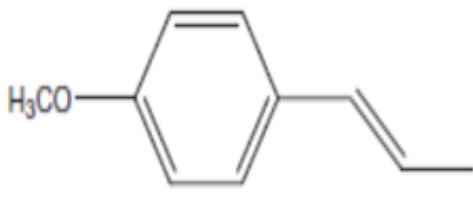
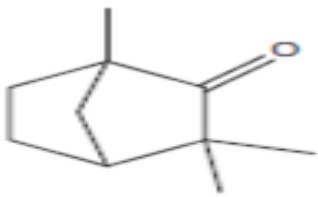
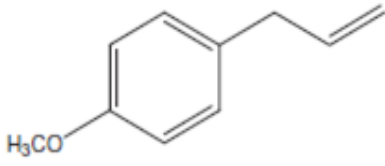
Plante	Composants majeurs	Propriétés	Usages	Production
<i>Pimpinella anisum L</i>	L'Anéthol 	Stomachiques, carminatives et antispasmodiques	Confiserie, parfumerie et aromatisant	Réglementée
	L'Estragol 			

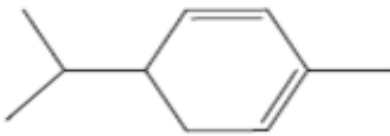
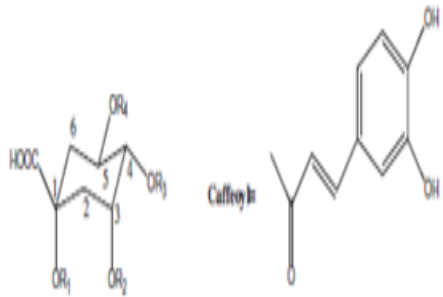
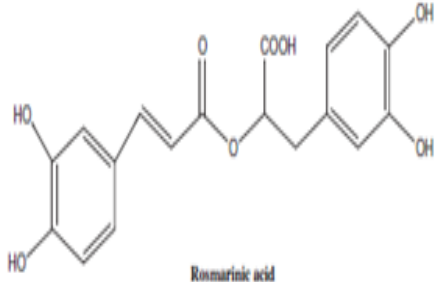
7. Huile essentielle de *Foeniculum vulgare* :

L'huile essentielle de cette espèce a fait l'objet de nombreuses études. Les composants majeurs du *foeniculum vulgare* sont principalement : Le trans-anéthol, le fenchone, l'estragole (méthyle chavicol), l'alpha-phellandrene et certains composés phytochimiques.

Les effets pharmacologiques des fruits du *F. vulgare* sont généralement attribués à leur huile essentielle. De nombreuses études ont montré que l'huile essentielle et ses constituants majeurs exposent souvent de nouvelles activités pharmacologiques.

Tableau 04: Les composants majeurs de *foeniculum vulgare*, leurs structures et leurs effets pharmacologiques.

Plante	Composants majeurs	Structures moléculaires	Effets pharmacologiques
<i>Foeniculum vulgare</i>	Trans-anéthol	 <p style="text-align: center;">Trans- anethole</p>	<p>-Troubles digestives (constipation chronique et crampes abdominales) (Bub et al., 2006 ; Picon et al., 2010)</p> <p>-Effet oestrogénique très actif</p> <p>-Effet anti-thrombotique, activité antiplaquettaire et action vasorélatrice (Tognolini et al., 2007).</p>
	Fenchone	 <p style="text-align: center;">Fenchone</p>	<p>-Agent acaricide contre les <i>Dermatophagoides farinae</i> et les <i>dermatophagoides pteronyssinus</i> (Tognolini et al., 2007).</p>
	Estragol	 <p style="text-align: center;">Estragol</p>	<p>-Cancérogène potentiel (Zeller et Rychlik, 2006)</p>
	α -phellandrène		<p>-Traitement d'hypertension</p> <p>-Effet potentiel dans le</p>

		 <p>alpha-phellandrene</p>	<p>traitement de glaucome (Agarwal et al., 2008)</p>
<p>Composés phytochimiques (glucides phénoliques et phénols)</p>		 <p>3-O-Caffeoylquinic acid (neochlorogenic acid) 5-O-Caffeoylquinic acid (chlorogenic acid) 4-O-Caffeoylquinic acid (cryptochlorogenic acid) 1,3-O-dicaffeoylquinic acid 1,5-O-dicaffeoylquinic acid 1,4-O-dicaffeoylquinic acid</p>  <p>Rosmarinic acid</p>	<p>- Prévention contre plusieurs maladies induites par le stress oxydatif, maladies cardiovasculaires, cancer et inflammation</p> <p>- Rôle dans la santé humaine (Marino et al., 2007).</p>

IV. Méthodes d'extraction :

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur ; il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide.

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant J.C. A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée (**Berthier, 1980 ; Möller, 2008**).

1. Principaux paramètres d'extraction :

Les principaux paramètres à prendre en compte dans les opérations fondamentales d'extraction de matières premières naturelles aromatiques sont :

- La volatilité ;
- La solubilité ;
- La taille et la forme des molécules constitutives ;
- L'adsorption.

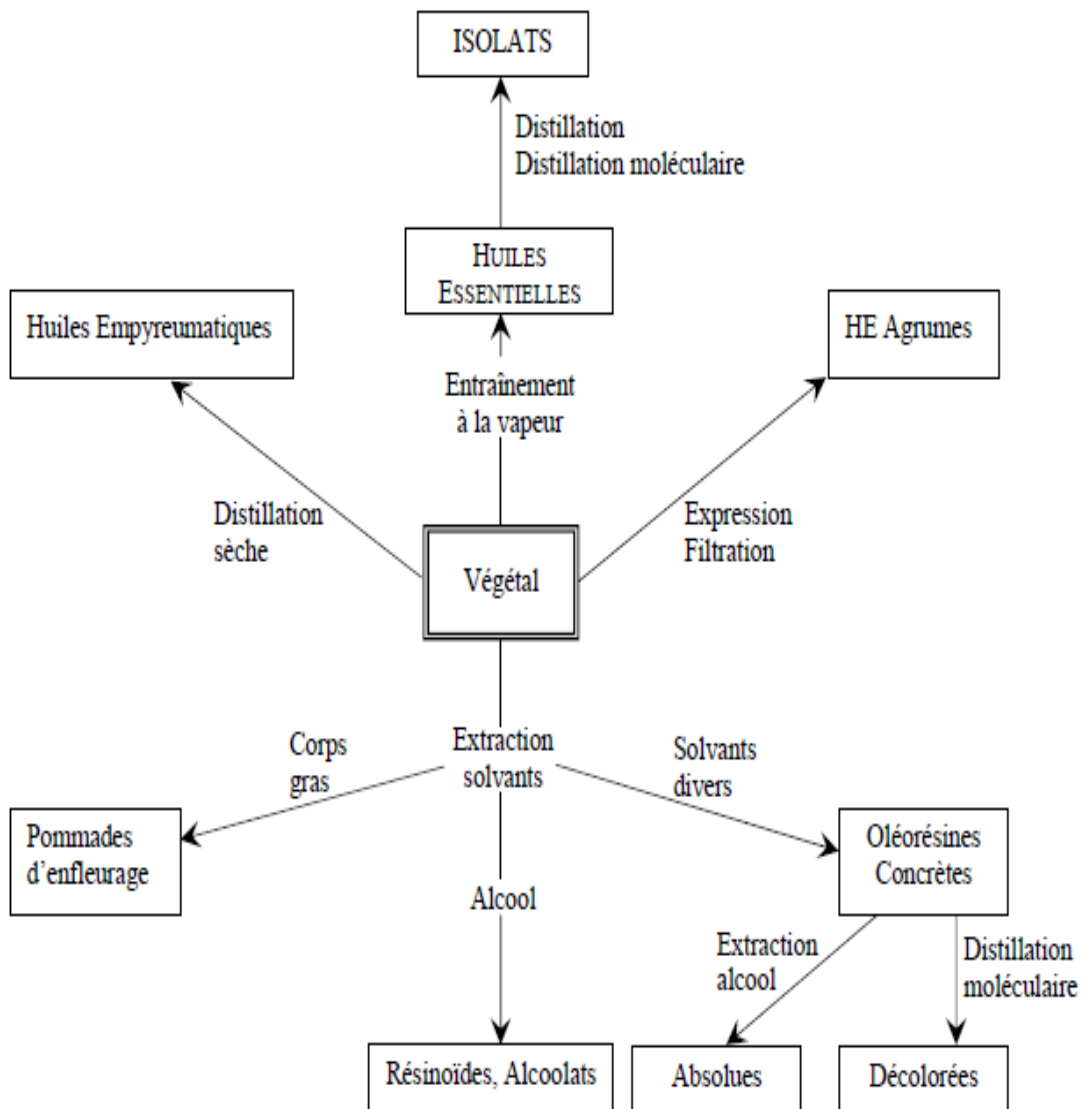


Figure 08 : Principales opérations industrielles d'extraction (Peyron, 1992).

2. Paramètres influençant l'extraction :

2.1. Matière végétale :

- Choix des plantes : Seules les plantes saines de l'espèce recherchée doivent être récoltées.
- Mode de cueillette : On peut cueillir les fleurs, feuilles, bourgeons et petites baies en les arrachant simplement de la plante à la main. Puis on récolte les tiges, les racines et écorces de préférence avec un petit couteau ou un sécateur. Cette méthode est plus écologique et permet d'obtenir des huiles essentielles

de meilleure qualité.

- Provenance (région d'origine) : Le sol dans lequel pousse la plante et le climat qui règne dans une région donnée déterminent et différencient en grande partie la qualité de l'essence que produit cette région par rapport à l'essence de la même plante provenant d'une autre région.
- Stade végétatif : La récolte doit avoir lieu pendant le stade végétatif quand la plante est plus riche en essence. Ce moment varie d'une plante à une autre.
- Période de la journée : La qualité de l'essence d'une plante varie en fonction de la période de la journée où elle est récoltée.
- Partie de la plante distillée : Les diverses parties d'une même plante (fleur, feuille, tige, écorce, racine, etc.) peuvent produire des essences différentes (Sallé, 2004 ; Möller, 2008).

2.2. Nature et état du solide et du soluté :

La nature et l'état physique du soluté ont une importance primordiale et déterminent le mécanisme de transfert de matière. Le soluté contenu dans ces corps est soit un solide, soit un liquide, stable ou non à la chaleur ou à l'atmosphère. Il est réparti uniformément en des teneurs variables dans le solide.

Si le soluté est dispersé uniformément dans le solide, les parties superficielles sont dissoutes en laissant derrière elles un solide poreux. Le solvant doit ensuite pénétrer cette couche extérieure avant d'atteindre le soluté situé en profondeur. Le chemin du solvant est rendu de plus en plus difficile, traduisant ainsi une diminution de la vitesse superficielle. Lorsque la teneur en soluté est importante dans le solide, la structure poreuse peut être détruite par broyage. La dissolution ultérieure du soluté devient plus facile. Dans les matières végétales, le soluté est généralement occlus dans des cellules d'où il est extrait par un mécanisme de dialyse ou de diffusion capillaire à travers des parois cellulaires. L'ordre de grandeur expérimentale de la diffusivité d'une huile est de $10^{-9} \text{m}^2/\text{s}$ dans le solvant libre et de $10^{-14} \text{m}^2/\text{s}$ dans le tissu cellulaire intact (Leybros et Frémeaux, 1990).

2.3. Nature, concentration et volume du solvant :

Le choix du ou des solvants est très important. Il doit être d'une grande pureté et avoir un faible point d'ébullition pour pouvoir être éliminé facilement en limitant la perte de composés volatils. Il ne doit pas interférer avec la méthode d'analyse utilisée. Il doit pouvoir extraire les composés polaires et apolaires ou bien être sélectif. Le choix est fonction de la matrice et des composés à étudier. Il faut tenir compte de la polarité des composés, de leurs températures d'ébullition et de la miscibilité avec les autres solvants (Cicile, 2002 ;Flamini et al., 2002).

2.4. Méthode, durée, température et pression :

La réduction de la pression provoque un abaissement des températures d'ébullition et de condensation. Inversement, toute augmentation de pression entraîne une élévation de ces températures (Cicile, 2002).

L'élévation de la température permet l'accroissement de la solubilité et de la diffusivité du soluté et la diminution de la viscosité (Leybros et Fremeaux, 1990).

La durée de l'extraction (longue ou prolongée) permet de recueillir l'ensemble des fractions «de tête» et «de queue» dans le cas de la distillation. Elle dépend du procédé d'extraction utilisé et de l'objectif de l'extraction (Cicile, 2002).

3. Techniques conventionnelles d'extraction :

3.1. Distillation et évaporation :

La différence entre distillation et évaporation est l'intérêt porté aux produits séparés. Dans la distillation, c'est la phase vapeur qui a de la valeur car elle contient le ou les constituants à séparer, alors que dans l'évaporation, c'est le résidu solide ou liquide obtenu par vaporisation du solvant, qui est le produit intéressant (Peyron, 1992).

3.2. Rectification (Distillation fractionnée) :

Cette opération de distillation sous vide consiste à séparer plusieurs constituants d'un mélange liquide par échange de matière entre une phase vapeur et une phase liquide, au moyen d'une série de vaporisations et de condensations entre ce liquide et cette vapeur qui chemine à contre courant dans une colonne. Elle permet de séparer des composants de mélanges liquides dans un état de grande pureté, voire éliminer les

traces d'eau, les matières solubles ou résineuses et les colorants (Cicile, 1994; Crouzet, 1998 ; Cicile, 2002)

3.3. Distillation sèche :

En chauffant en milieu clos, certains bois (cade, bouleau,...) à des températures élevées, on fabrique des huiles empyreumatiques (cade, bouleau, arôme fumé...) d'importance assez limitée, mais riches en hydrocarbures aromatiques polycycliques cancérigènes (Peyron, 1992 ; Garnero, 1996).

3.4. L'enfleurage :

Cette méthode est très ancienne. Elle consiste à extraire les parfums à partir des fleurs par contact avec la matière grasse. Les graisses seront encombrées en essence et utilisées comme produit cosmétique sous forme de pommade (Silvant, 2015).



Figure 09 : L'ancienne technique d'enfleurage.

3.5. Extraction au CO₂ supercritique :

Cette méthode est récente. Elle est basée sur l'utilisation d'un fluide supercritique qui possède les propriétés des gaz et des liquides. Ce qui lui permet de pénétrer dans les matrices d'échantillon solides. Le principe de cette technique correspond à une distillation répétée du solvant extrayant un soluté de l'échantillon solide (Brisset, 2011).

L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique, caractérisé par une température (T_c) et une pression (P_c), les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire ; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide. Leur pouvoir dissolvant dépend fortement de la température et de la pression (**Perrut, 1999**).

Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone (**Pellerin, 1991, 2001**).

Extraction par CO₂ supercritique

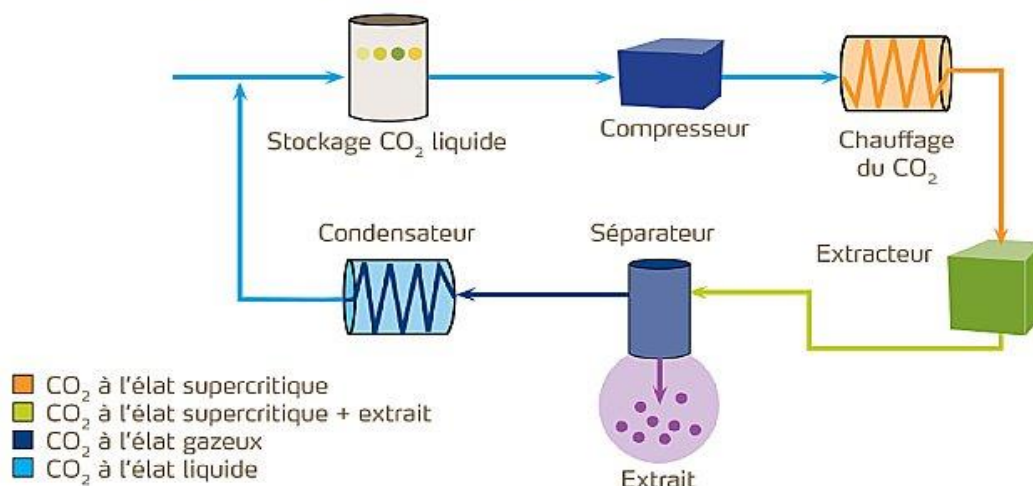


Figure 10 : Méthode d'extraction par CO₂ supercritique (**Pellerin, 2001**).

3.6. L'hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion (Figure 11) est une codistillation descendante. Dans ce procédé, le végétal est disposé dans un parallélépipède métallique grillagé. On soumet donc le végétal à une pulsion de vapeur d'eau, saturée et humide, mais jamais surchauffée de haut en bas. La forme de l'appareillage permet une meilleure répartition des charges. La vapeur d'eau emporte avec elle toutes les substances volatiles. L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression

atmosphérique. On peut aussi préciser qu'il y a un procédé de cohobation qui renvoie dans la chaudière toutes les eaux qui sont séparées des huiles (Wijsekara et al., 1997).

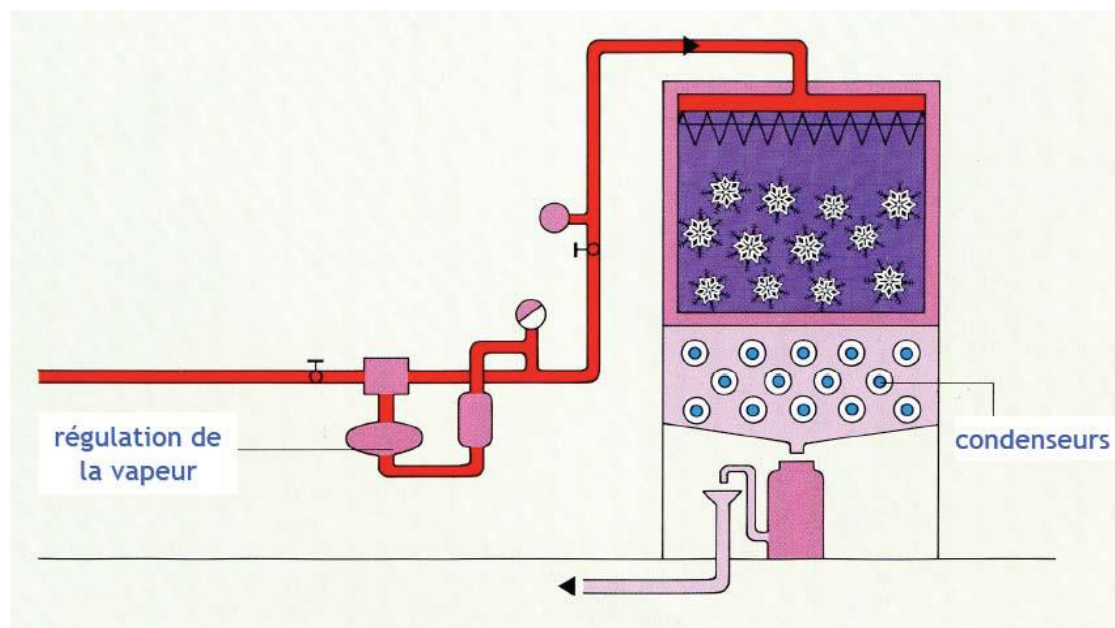


Figure 11 : Le procédé d'hydrodiffusion (Bousbia, 2011).

3.7. L'hydrodistillation :

C'est la méthode la plus ancienne, la plus utilisée et la plus rentable qui a été introduite en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle. Il s'agit de mettre le matériel végétal à l'intérieur d'un alambic rempli d'eau et qui est porté ensuite à ébullition (figure 12). L'huile essentielle se sépare par différence de densité après la condensation des vapeurs hétérogènes sur une surface froide.

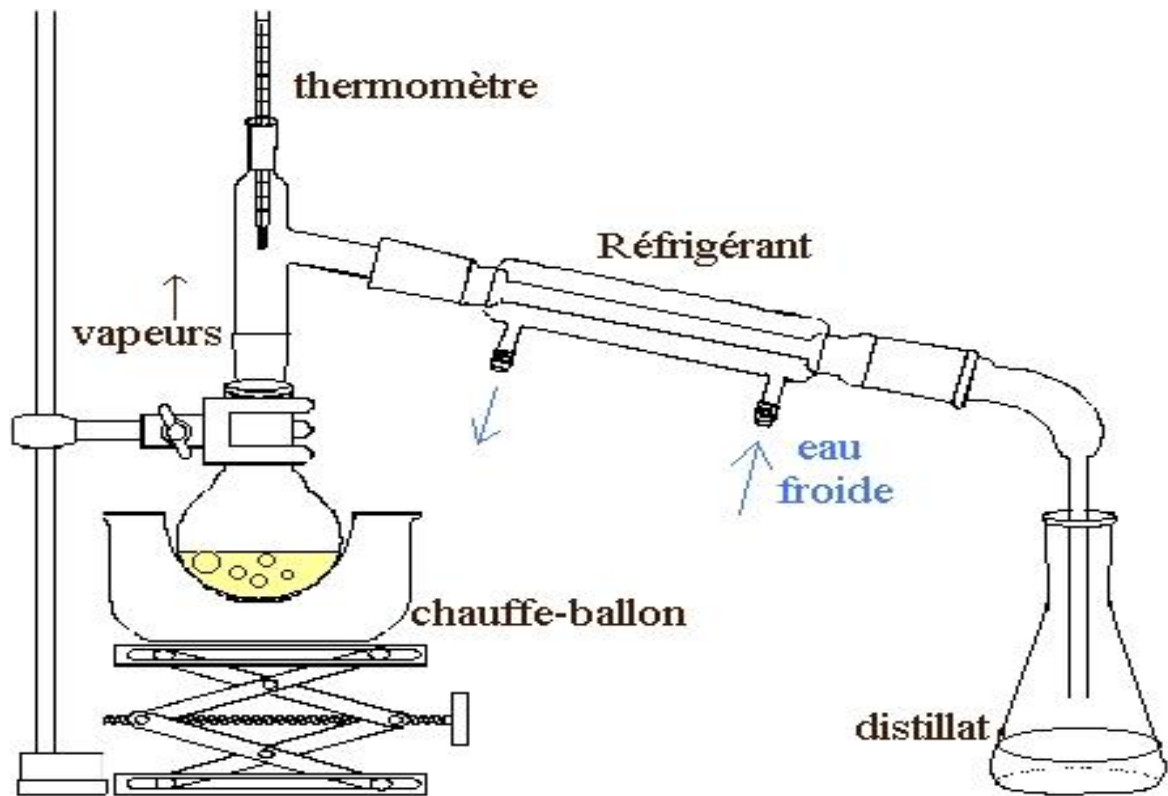


Figure 12 : Montage d'hydrodistillation (Treiner, 2000).

3.8. Soxhlet :

Le solide est placé dans une cartouche poreuse. Le solvant, contenu dans le ballon, est porté à ébullition, ce qui le transfère dans la partie supérieure. Là, il est condensé grâce à un réfrigérant situé en haut de l'installation et s'accumule autour et à l'intérieur de la cartouche. Lorsque le solvant atteint le niveau supérieur du siphon, le mélange est renvoyé dans le ballon par différence de pression, où il est à nouveau évaporé. Plusieurs cycles d'extraction sont ainsi effectués, la durée de l'opération est laissée libre à l'utilisateur. On considère avoir alors atteint l'épuisement total en soluté du substrat solide et avoir concentré l'extrait (Ngamprasertsith., 1993).

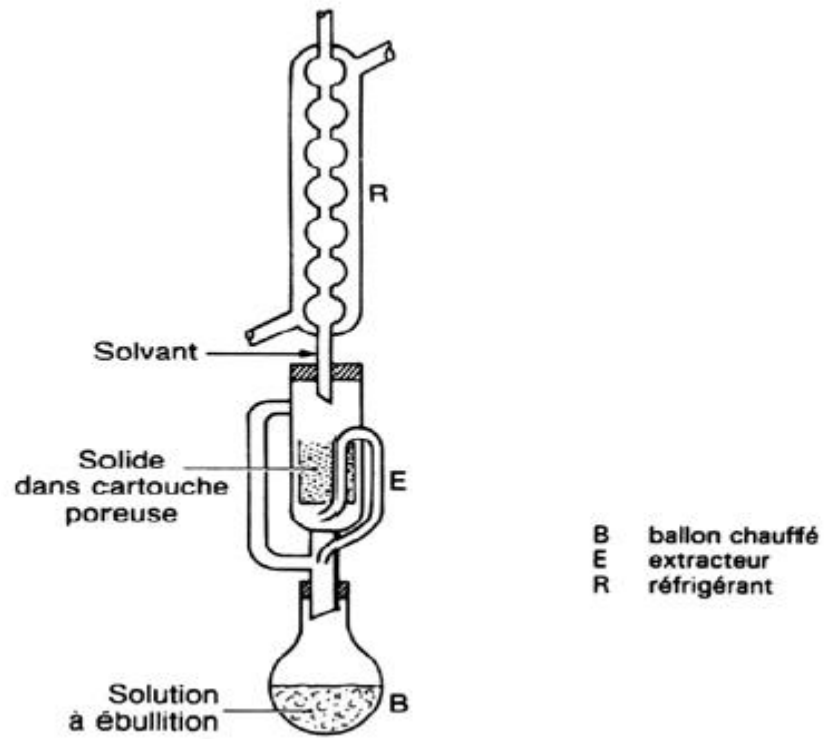


Figure 13 : Appareil du soxhlet (source : Tech. De l'Ing., n° J2782).

Matériel et Méthodes

Cette étude a pour objectifs, la détermination d'une part, de l'aspect qualitatif et quantitatif des huiles essentielles et des extraits de l'anis vert et du fenouil, d'autre part évaluer le profil antioxydant et phytochimique de ces plantes.

1. L'huile essentielle :

1.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est représenté par des graines sèches et broyées de l'anis vert (figure14) et du fenouil (figure15), obtenues à partir des herboristes de la wilaya de Saida.



Figure 14 : Graines sèches de l'anis vert

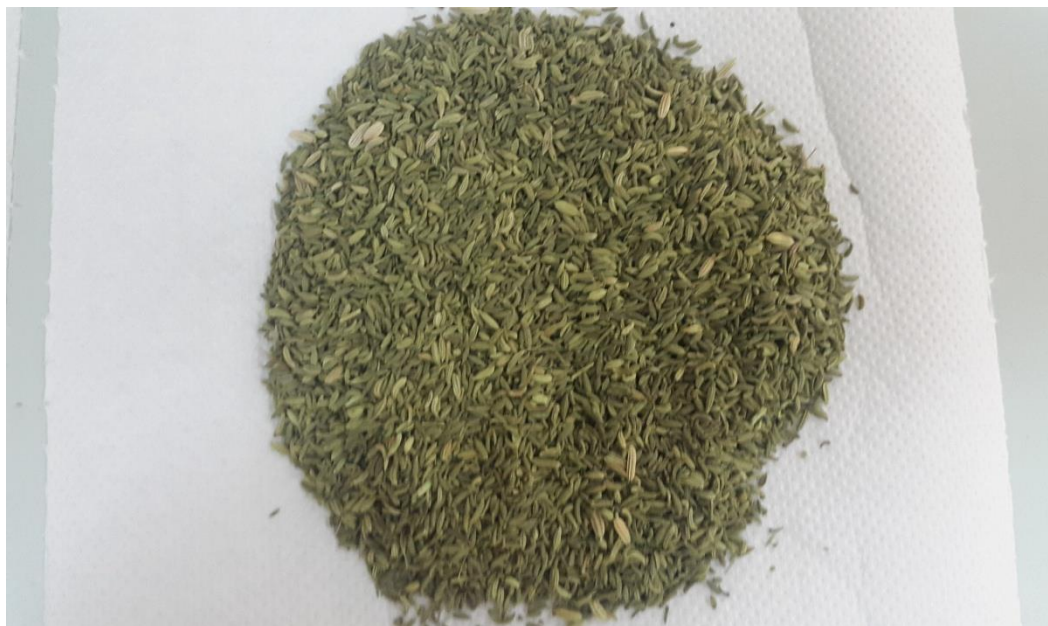


Figure 15 : Graines sèches du fenouil

1.2. Procédé d'extraction :

L'obtention des huiles essentielles et des extraits méthanolique et hexanolique a été effectuée par deux méthodes d'extraction, l'hydrodistillation et en utilisant le soxhlet.

1.2.1. L'hydrodistillation :

1.2.1.1. Procédé d'expérimentation :

On a mis 50 g des graines moulues pour l'anis (Ivan et al., 2005) et 70 g de graines moulues pour le fenouil (Viuda-Martos et al., 2011), dans un ballon de 1000 ml, aux quelles on a ajouté 500 ml d'eau distillée pour l'anis et 600 ml pour le fenouil. L'ensemble est porté à ébullition. L'huile essentielle est alors entraînée par la vapeur d'eau. Elle est ensuite condensée en passant par le réfrigérant, qu'est fixé par un support approprié en position inclinée pour faciliter l'écoulement du distillat. Le temps de cette extraction est d'environ trois heures. A noter que, dès la première goutte, l'hydrolat de chaque heure est récupéré dans un flacon à part.



Figure 16: Hydrodistillateur

1.2.1.2. Décantation :

Le mélange est laissé au repos pendant 24 heures dans une ampoule à décanter ce qui en résulte l'apparition de deux phases, une phase supérieure organique (huile essentielle) et une autre inférieure aqueuse. Enfin, le distillat est recueilli dans le collecteur (en verre pyrex) et l'huile essentielle des graines du fenouil sera par la suite récupérée dans un tube approprié (figure 17).



Figure 17 : Ampoules à décanter

1.2.2. Soxhlet :

La masse de la matière végétale broyée (30 g) est placée dans une cartouche porteuse. On verse 250 ml du méthanol pour le *pimpinella anisum* (Chhabra et al., 1982) et le même volume en hexane pour *foeniculum vulgare* (Moser et al., 2014) dans un erlenmeyer, puis on place le mélange sous une source de chaleur et de vibration (Thérmoagitateur : 6,5 bars ; 70 °C). L'ensemble est ensuite porté à ébullition, ce qui le transfère dans la partie supérieure. Il est condensé grâce à un réfrigérant situé en haut de l'installation et s'accumule autour et à l'intérieur de la cartouche renfermant les graines de la plante concernée. Lorsque le solvant atteint le niveau supérieur du siphon, le mélange est renvoyé dans l'erlenmeyer par différence de pression, où il est à nouveau évaporé. Trois cycles d'extraction sont ainsi effectués (figure 18). Lorsqu'on atteint l'épuisement total en soluté du substrat solide, l'ensemble de l'huile et du solvant est récupéré dans un flacon, après chaque cycle effectué.

Tableau 05 : tableau récapitulatif des volumes récupérés et le temps pris par chaque cycle du soxhlet.

	1 ^{er} cycle	2 ^{ème} cycle	3 ^{ème} cycle
Anis vert	100 ml	80 ml	75 ml
Fenouil	150 ml	110 ml	50 ml
Durée			
Anis vert	4h49min	8h30min	12h00min
Fenouil	6h10min	8h49min	10h10min

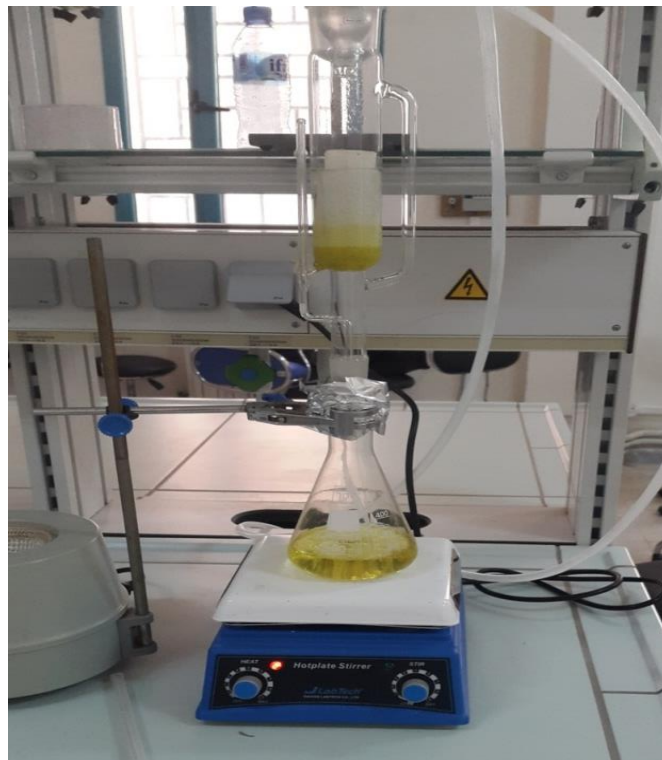


Figure 18 : Appareil du soxhlet

1.2.2.1. Evaporation :

L'évaporation est assurée par un évaporateur rotatif relié à un ballon dans lequel le mélange (huile + solvant) est placé (figure 19). L'extrait récupéré est quantifié. De ce fait, on pèse le ballon vide, puis contenant l'extrait après l'évaporation.

Soit :
$$P_e = P_{eb} - P_b$$

D'où :
$$R(\%) = (P_{eb} - P_b) / m_{MV} \times 100$$

Avec :

P_e : poids de l'extrait (g).

P_{eb} : poids du ballon contenant l'extrait après évaporation (g).

P_b : poids du ballon vide (g).

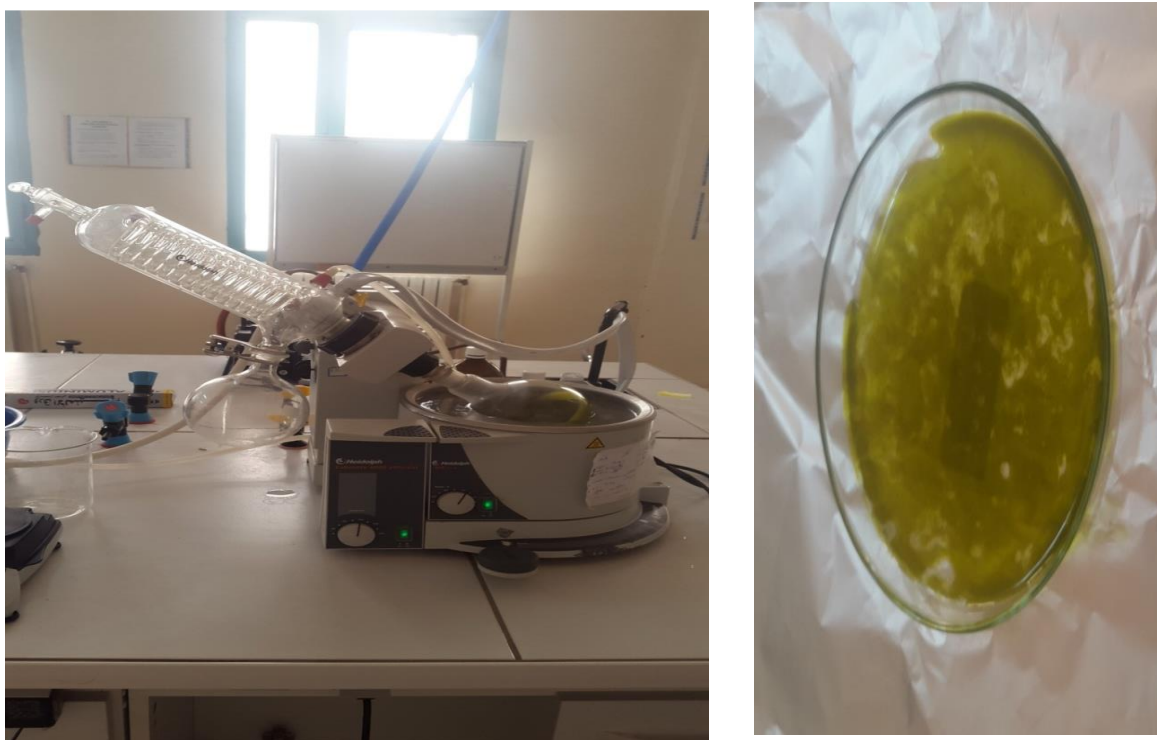


Figure 19 : L'Appareil évaporateur rotatif (à gauche) et l'extrait sec (à droite)

2. Calcul de rendement:

Le rendement en huile essentielle s'exprime par le rapport entre la quantité d'huile extraite et la quantité de matière végétale utilisée pour l'extraction. Il est calculé de la manière suivante :

$$R (\%) = (m_{HE}/m_{MV}) \times 100$$

Avec :

m_{HE} : masse de l'huile essentielle obtenue.

m_{MV} : masse de la matière végétale utilisée.

3. Analyse quantitative :

3.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG /SM) :

3.1.1. Principe :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique couramment utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques.

La chromatographie consiste à séparer les composés d'un mélange en fonction des vitesses d'entraînement à travers une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile gazeuse (gaz vecteur) (Arpino *et al.*, 1995).

La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En CPG/SM, la comparaison informatique des spectres d'un pic inconnu avec une ou plusieurs références permet son identification (Bruneton, 1993).

3.1.2. La spectrophotométrie de masse :

La spectrophotométrie de masse repose sur l'ionisation et la fragmentation des molécules. Leur ionisation entraîne en effet une accumulation d'énergie qui en se dissipant, peut provoquer la rupture des liaisons interatomiques et donner naissance à des fragments caractérisés par le rapport de leur masse et leur charge. Les différents

fragments ainsi produits, sont accélérés avant de parvenir à un analyseur appelé filtre de masse, qui les sépare. Le recueil sélectif des différents ions permet l'établissement d'un spectre caractéristique appelé : spectre de masse.



Figure 20 : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.

3.1.3. Mode opératoire :

Les constituants de l'huile essentielle et de l'extrait ont été identifiés par CPG/SM. L'analyse a été réalisée par un chromatographe à phase gazeuse du type Varian Saturn 2200 couplé à un spectromètre de masse Varian 2100 T, en utilisant le logiciel Saturn Varian (Version 6, 9, 1). La colonne capillaire était apolaire de 30m de longueur, de 0,25 mm de diamètre et de 0,25 μm d'épaisseur. Le débit du gaz porteur (hélium) était 1 ml/min. 1 μl d'huile essentielle et d'extrait a été injecté, en utilisant le mode split (1/20). La température de la colonne a été maintenue à 50°C pendant 5 min, puis montée de 5°C/min jusqu'à 300°C (5min). Le détecteur était à l'ionisation de flamme (FID). L'énergie d'ionisation était 70 eV. L'analyse a pris 2 heures du temps.

3.2. Préparation des échantillons analysés par la CPG :

On a choisi d'analyser par la CPG les échantillons suivants :

-L'huile essentielle extraite par hydrodistillation.

-L'extrait du 3^{ème} cycle du soxhlet correspondant aux deux plantes.

-On a solubilisé les extraits par le solvant qui correspond à chaque plante.

4. Décoction :

4.1. Principe :

On place les graines des plantes dans l'eau distillée froide et on porte le tout à ébullition.

4.2. Mode opératoire :

Une prise de 25 g des graines d'anis vert (**Nazia et al., 2006**) et de fenouil (**Cristina et al., 2014**) est ajoutée à 250 ml d'eau distillée. Après 15 min d'ébullition sur un thermoagitateur (50°C, 5 bars), le mélange obtenu est filtré en utilisant un papier filtre. Ce filtrat sera par la suite utilisé pour effectuer les tests phytochimiques.

5. Analyse qualitative :

5.1. Etude phytochimique :

Dans le cadre de la recherche des molécules ou d'activités biologiques d'origine végétale, il est préférable de déterminer leurs compositions chimiques par une étude phytochimique afin de détecter les classes des composés existants dans les différents organes des plantes.

Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

5.1.1. Différentes classes recherchées :

5.1.1.1. Les tannins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de Fe Cl₃ diluée (1%).

L'apparition d'une coloration bleu-noire caractérise la présence des tannins galliques verte, ou bleu-verte celle des tannins cathéchiques (**Aiyegoro et Okoh, 2010**).

5.1.1.2. Les flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml de HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence, si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (Jaffer et al., 1983).

5.1.1.3. Les anthocyanes :

Un volume de 2 ml d'infusé est additionné à 2 ml de HCl₂N. L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray et al., 1971).

5.1.1.4. Les coumarines :

Une masse de 1 g de poudre végétale est placée dans un tube en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence des coumarines après examen sous ultra-violet (Geisman, 1962).

5.1.1.5. Les alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 2 g de poudre végétale mélangés à 50 ml de H₂SO₄ dilué au demi et à de l'eau distillée. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat. Ensuite nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1 ml du macéra. Nous avons ajouté dans le tube n°1 cinq gouttes de réactif de Mayer et dans le tube n°2 cinq gouttes de réactif de Wagner. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes (Aiyegoro et Okoh, 2010).

5.1.1.6. Stérols et triterpènes :

Deux essais ont été effectués :

Essai 1 : Test pour les stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée

fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C) (Aiyegoro et Okoh, 2010).

Essai 2 : Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydride acétique/chloroforme (5/5 : v/v) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Libermann-Burchardt). Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques (Aiyegoro et Okoh, 2010).

5.1.1.7. Les saponosides :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul d'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Nous avons procédé à une décoction de 2 g de poudre végétale avec 100 ml d'eau distillée qu'on porte à ébullition pendant 30 minutes.

Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1,2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun de ces tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes.

Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en centimètre. Si elle est proche de 1 cm dans le 10^{ème} tube, alors l'indice de masse est calculé par la formule suivante : La présence de saponines dans la plante est confirmée avec un indice supérieur à 100 (Dohou et al., 2003).

$I = \text{Hauteur de mousse (en cm) dans le } 10^{\text{ème}} \text{ tube} \times 5 / 0,0X$

Avec :

X : Volume contenu dans le 10^{ème} tube

5.1.1.8. Les composés réducteurs :

Leur détection consiste à mettre 1 ml de l'extrait éthanolique avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis le chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

5.1.1.9. L'amidon :

On chauffe 3 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaOH saturée dans un bain marin jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'iode. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacée (**Bruneton, 1999**).

6. Etude de l'activité anti-oxydante :

Les antioxydants sont des molécules qui, lorsqu'elles sont présentes à faibles concentrations par rapport aux substrats oxydables, retardent ou stoppent le processus d'oxydation. La capacité anti-oxydante des molécules peut être évaluée soit de façon *in vivo*, sur des organismes vivants, soit de manière *in vitro*, en utilisant des tests qui miment le phénomène physiologique. Pour évaluer l'activité anti-oxydante, *in vitro*, des extraits naturels de différentes méthodes ont été développées. Ces méthodes impliquent le mélange d'espèces oxydantes, tels que des radicaux libres ou des complexes métalliques oxydés, avec un échantillon qui contient des antioxydants capables d'inhiber la génération des radicaux. Ces antioxydants peuvent agir selon deux mécanismes majeurs, par transfert d'atome d'hydrogène ou par transfert d'électron. Ainsi, compte tenu de différents facteurs impliqués, telles que les propriétés physico-chimiques des molécules, il est recommandé d'utiliser plusieurs tests pour confirmer une activité anti-oxydante (**Prior et al., 2005**).

De ce fait on a choisi d'utiliser le test de piégeage du radical DPPH.

6.1. Piégeage du radical DPPH :

6.1.1. Principe :

Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité anti-oxydante en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse. A température ambiante, le radical DPPH présente, en solution alcoolique, une intense coloration violette qui disparaît au contact d'une substance donneuse de protons (figure 21). Cette décoloration met en évidence le pouvoir antioxydant d'un échantillon par sa capacité à piéger le radical libre et se traduit par une diminution de l'absorbance à 517 nm (Masuda et al., 1999).

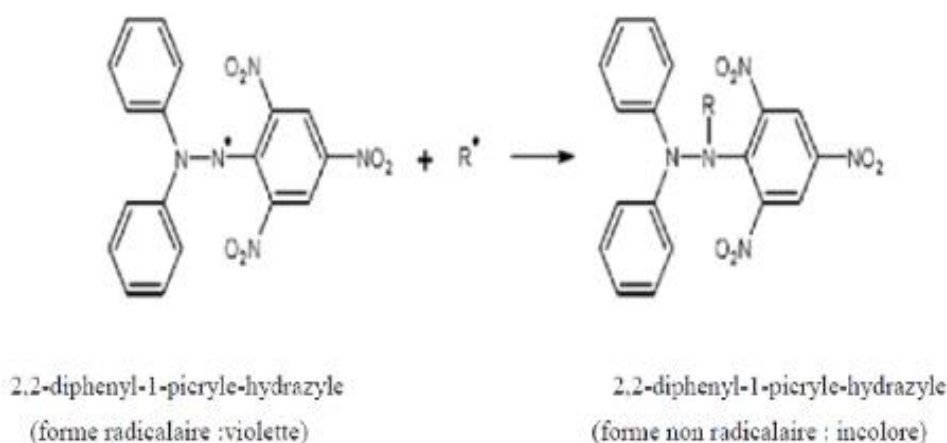


Figure 21 : Mécanisme d'action d'un antioxydant (Akrouit et al., 2009)

6.1.2. Mode opératoire :

L'activité anti-oxydante est mesurée selon la méthode de (Hatano et al. 1988). La solution DPPH (0,2 mM) est obtenue en dissolvant 7.8 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol ; 250 µl de cette solution sont additionnés à 1 ml d'extrait/d'huile essentielle à chaque concentration.

Après une agitation vigoureuse du mélange, il est conservé au repos pendant 30 minutes à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible en se référant à un témoin sans extrait.

Selon Rashid et al. (2010) L'activité anti-oxydante est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$PI = (DO \text{ témoin} - DO \text{ échantillon} / DO \text{ témoin}) \times 100$$

PI : pourcentage d'inhibition.

DO témoin : lecture de l'absorbance du témoin.

DO échantillon : lecture de l'absorbance de la solution de l'échantillon.

La courbe représentant la variation de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration permet de déterminer la valeur d'IC50 (concentration correspondant à 50 % d'inhibition, exprimée en mg.ml^{-1}).

La valeur d'IC50 la plus faible correspond à l'efficacité de l'huile/l'extrait la plus élevée. L'étude quantitative et qualitative des huiles essentielles et des extraits méthanoliques extraites à partir des plantes aromatiques et médicinales permet leur valorisation afin de les cibler selon leurs rendements, leurs compositions et leurs activités pour de futures applications.

Résultats et Interprétations

1. Détermination du rendement :

1.1. Rendement de *Pimpinella Anisum* :

► En huile essentielle :

Les résultats relatifs au rendement montrent que l'extraction par hydrodistillation a donné un rendement total de l'ordre de 1,383%. Cependant cette technique a révélé que le rendement de la 1^{ère} heure (1,110%) est très élevé par rapport à celui de la 2^{ème} et de la 3^{ème} heure qui sont respectivement : 0,170% et 0,106 %.

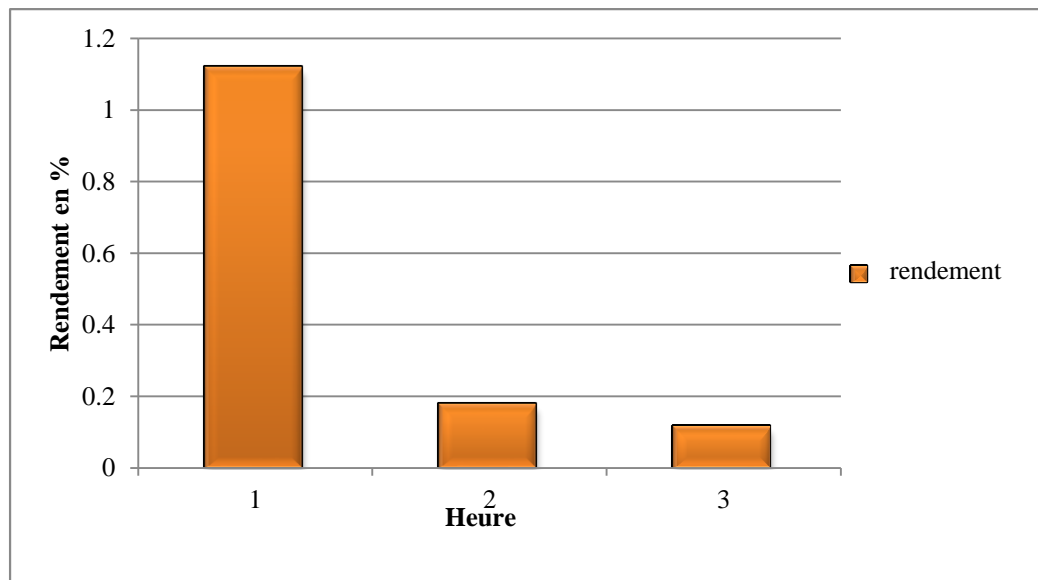


Figure 22 : Rendement en huile essentielle du *pimpinella anisum* en fonction du temps.

► En extrait Méthanolique :

En ce qui concerne l'extraction méthanolique, elle a démontré un rendement total de 5,72%. De plus, cette technique présente un rendement de 0,7% en premier cycle et 1,96%, 3,06% pour le deuxième et le troisième cycle.

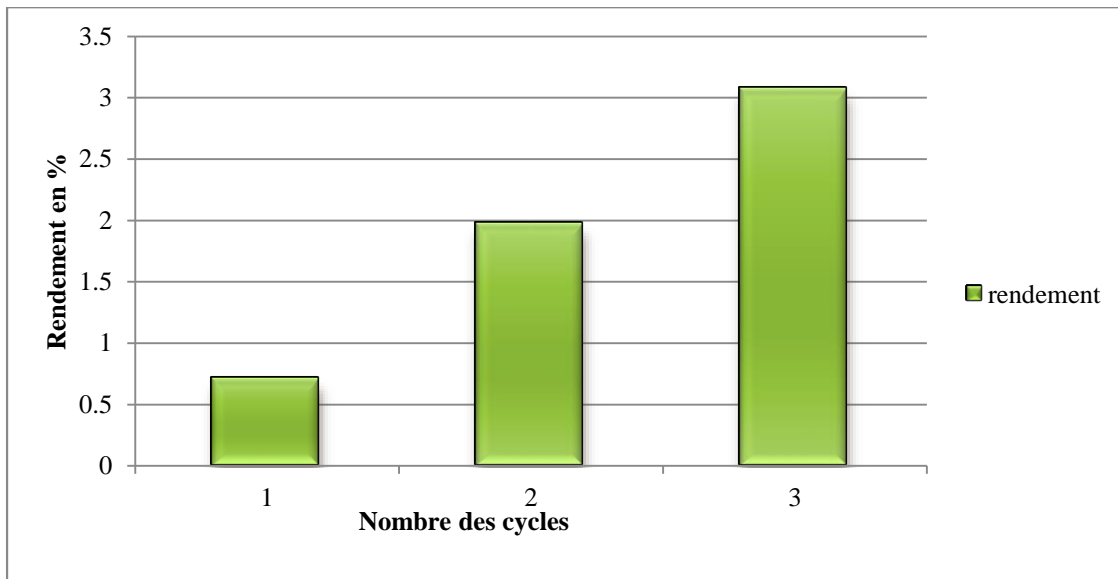


Figure 23 : Rendement en extrait méthanolique du *pimpinella anisum* en fonction du nombre des cycles.

1.2. Rendement de Foeniculum Vulgare :

► En huile essentielle :

Les données enregistrées suite à l'hydrodistillation ont montré un rendement total de 0,419%. Par conséquent, le rendement en huile de la 1^{ère} heure (0,246%) est supérieur à celui de la 2^{ème} heure et de la 3^{ème} heure (0,062%).

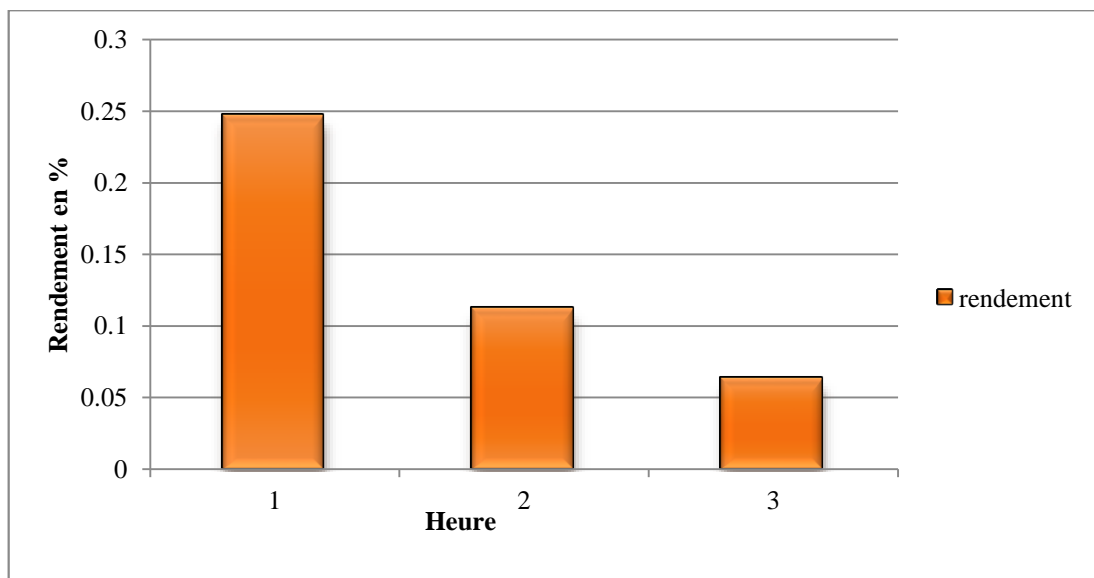


Figure 24 : Rendement en huile essentielle du *foeniculum vulgare* en fonction du temps.

► **En extrait héxanolique :**

Les données obtenues par l'extraction héxanolique ont révélé que le rendement total en extrait est de l'ordre de 4,82%. De plus, cette technique présente un rendement de 0,53% en premier cycle et 1,56 %, 2,73% pour le deuxième et le troisième cycle.

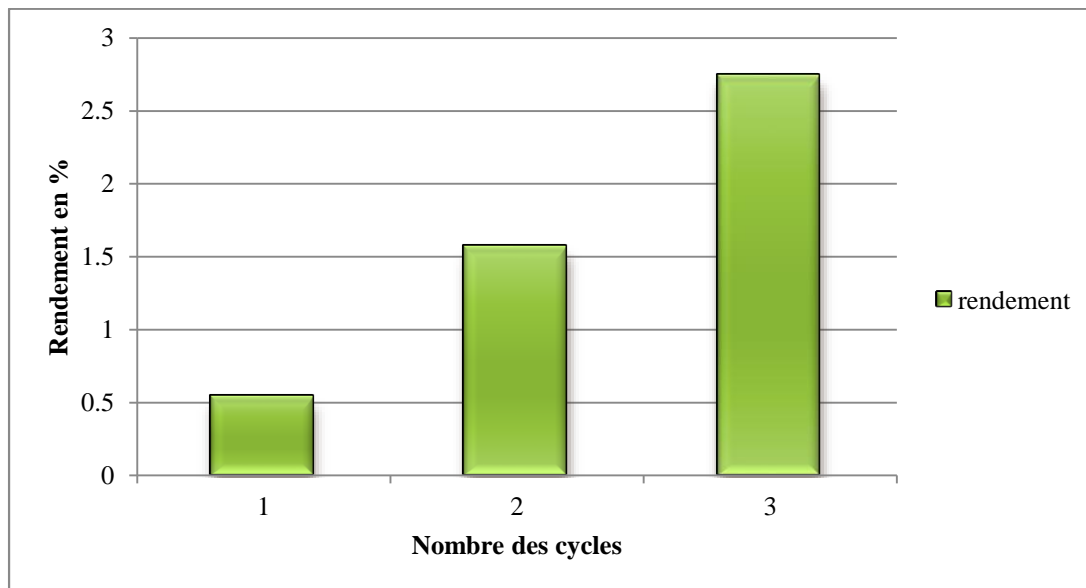


Figure 25 : Rendement en extrait héxanolique du *foeniculum vulgare* en fonction du nombre des cycles.

A travers les résultats obtenus précédemment pour les deux techniques à savoir hydrodistillation et soxhlet, on a remarqué une élévation assez importante du rendement en huile essentielle de *pimpinella anisum* (1,386 %) par rapport à celui de *foeniculum vulgare* (0,419 %) (Figure 26). De même, le rendement en extrait méthanolique de l'anis (5,72%) est supérieur par rapport à celui héxanolique du fenouil (4,82%).

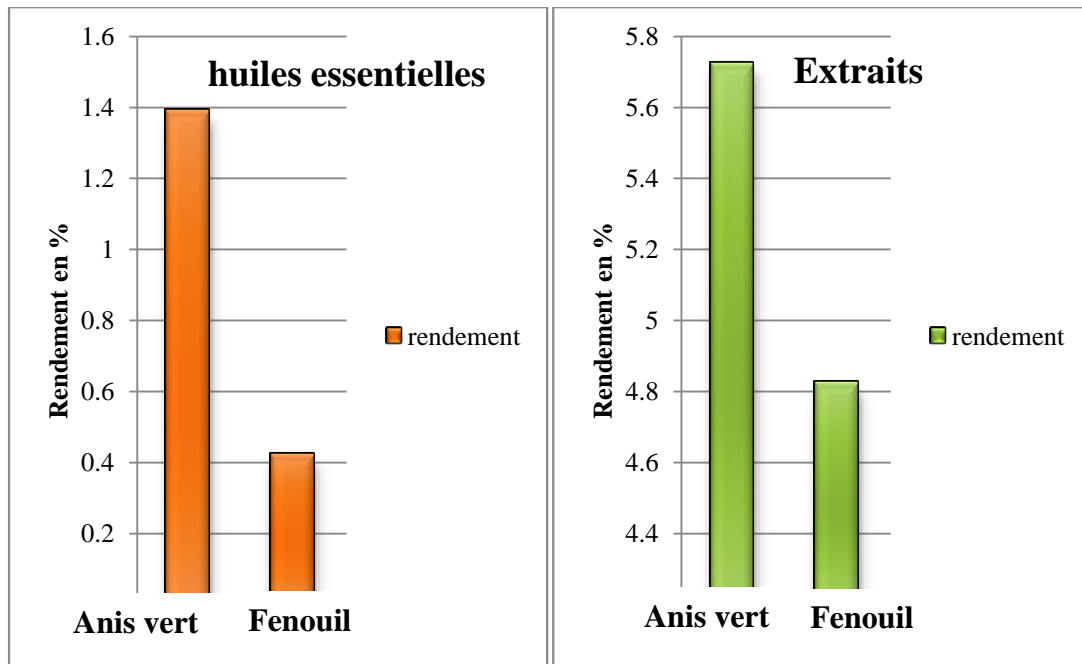


Figure 26 : Histogrammes représentant les rendements des deux plantes en huiles et en extraits.

2. Analyse phytochimique :

Les résultats concernant le screening phytochimique sont consignés dans le tableau suivant (tableau 06). Le signe “+” traduit la présence du groupe de composés chimiques et le signe “-” son absence. En effet, nous notons l’absence de composés réducteurs et de l’amidon pour les échantillons des deux plantes.

Tableau 06 : Résultats du screening phytochimique pour neuf composés phytochimiques chez l’anis vert et le fenouil.

	Anis vert	Fenouil
Les tanins	+ cathéchique	+ cathéchique
Les flavonoïdes	+	+
Les anthocyanes	+	+
Les coumarines	+	+
Les alcaloïdes	+W/+M	+W/+M
Stérols	+ triterpéniques	+ triterpéniques
Saponosides	+	+
Composés réducteurs	-	-
Amidon	-	-

W : Réactif de Mayer

M : Réactif de Wagner

3. Etude de l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits méthanoliques de *Pimpinella anisum* et de *Foeniculum vulgare* :

L'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de DPPH. Les courbes des pourcentages d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des huiles et des extraits nous ont permis de déterminer les concentrations d'inhibition à 50 % (IC50) (tableau 07).

Tableau 07 : Concentrations d’inhibition des extraits méthanoliques et des huiles essentielles des graines de *Pimpinella anisum* et de *Foeniculum vulgare*.

IC50 (mg.ml ⁻¹)		
	Huile essentielle	Extrait méthanolique
<i>Pimpinella Anisum</i>	5,484	1,879
<i>Foeniculum vulgare</i>	5,196	1,076

On a remarqué que les extraits méthanoliques du *pimpinella anisum* et du *foeniculum vulgare* dont les valeurs IC50 sont respectivement 1,879 mg/ml et 1,076mg/ml présentent une activité antioxydante plus importante que celle des huiles essentielles ayant les valeurs IC50 : 5,484 mg/ml et 5,196mg/ml.

Suite aux résultats obtenus, on a constaté que le *foeniculum vulgare* s’avère être plus capable à piéger les radicaux libres que le *pimpinella anisum*.

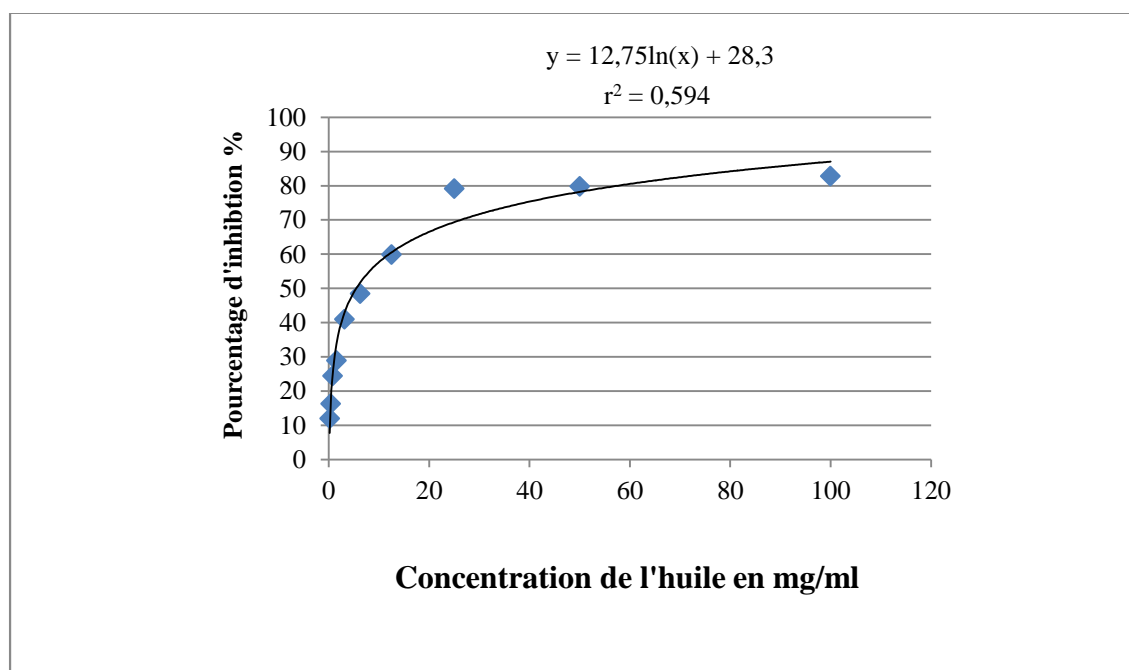


Figure 27 : Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de concentration en huile essentielle de *pimpinella anisum*.

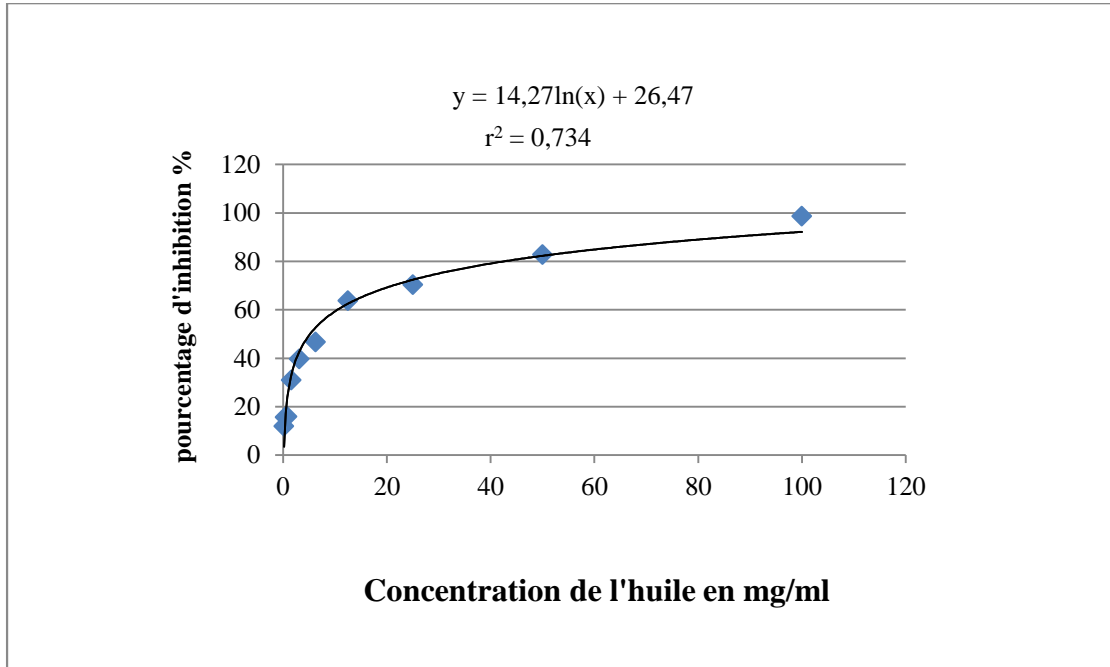


Figure 28 : Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en huile essentielle de *foeniculum vulgare*.

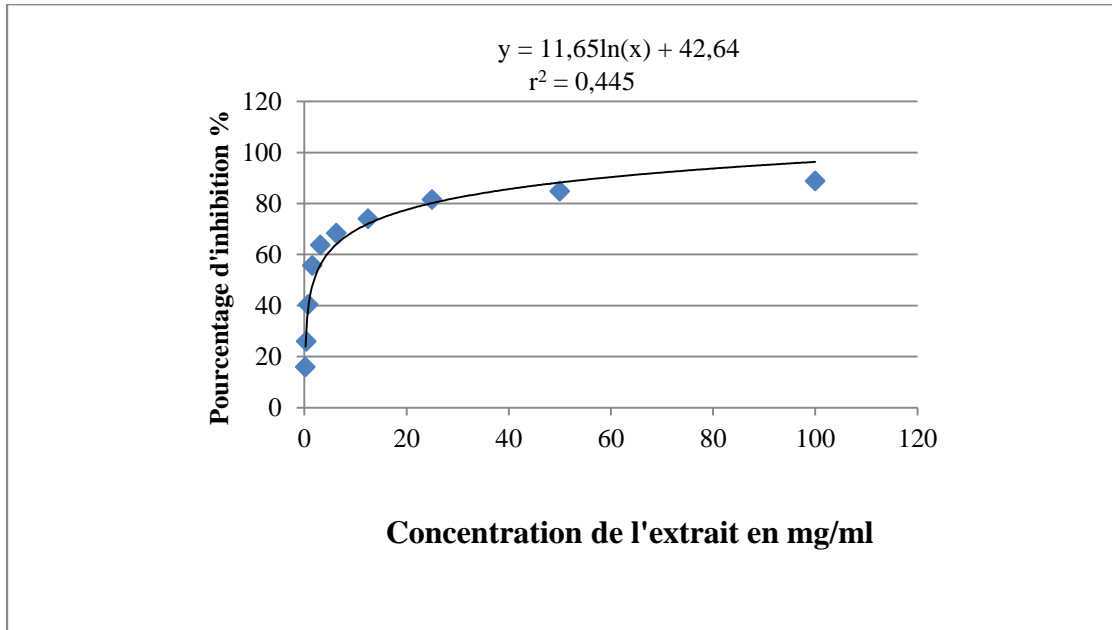


Figure 29 : Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait méthanolique de *pimpinella anisum*.

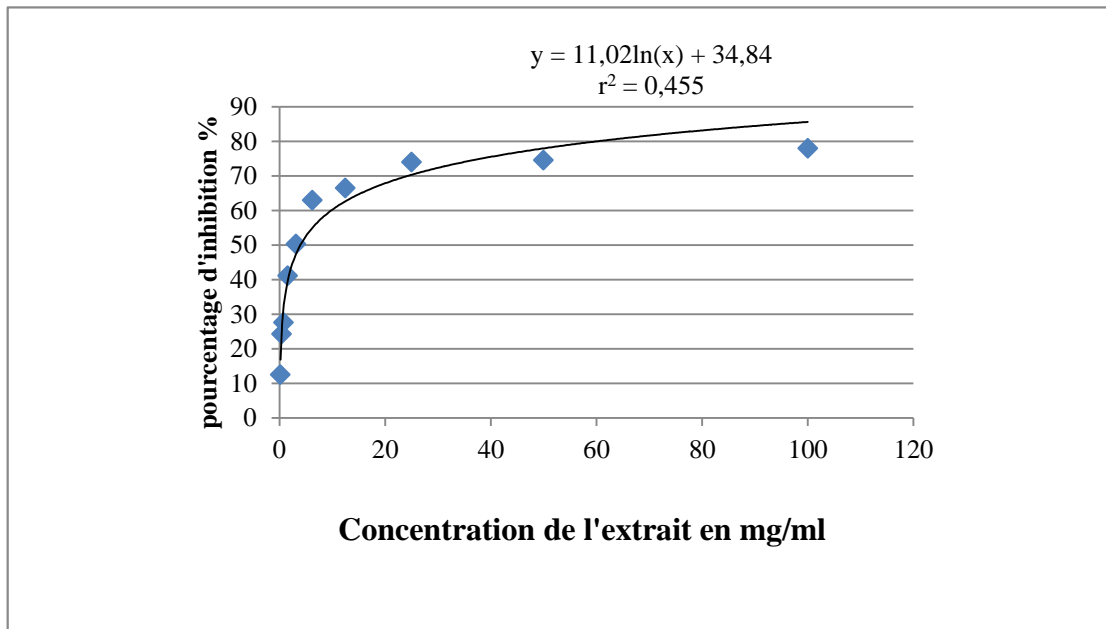


Figure 30 : Courbe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en extrait méthanolique de *foeniculum vulgare*.

4. Détermination de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits par CPG/MS :

Les résultats de l'identification des composés chimiques par CPG/SM des huiles et des extraits des deux plantes sont représentés dans les figures (31, 32, 33 et 34).

L'analyse chimique a fait ressortir 17 constituants pour l'anis vert ce qui correspond à 83,55% du total de l'huile essentielle et 92,86% du total de l'extrait méthanolique . L'huile est majoritairement constituée de trans-anéthol (55,44%), de fenchone (8,99%), de limonène (8,01%) et d'estragole (7,25%). Cependant les principaux composants de l'extrait sont le trans-anéthol (86,43%), l' γ -Himachalène (4,82%) et le cis-anéthol (0,66%).

En plus, la CPG/SM a permis de recenser 21 composés à partir de fenouil dont le trans-anéthol(34,7907%),le fenchone (14,0556%) et le limonène (9,5032%) sont les constituants majoritaires de l'huile essentielle et le trans-anéthol, le fenchone et l'estragol sont les principaux composants de l'extrait hexanolique, représentés avec des pourcentages 67,80%, 16,95% et 4,01%. Cette composition chimique représente 71,24% du total du premier et 98,06% du deuxième.

A l'issue de ces résultats, il ressort que le trans-anéthol est le composé chimique majeur des graines de *pimpinella anisum* et de *foeniculum vulgare*.

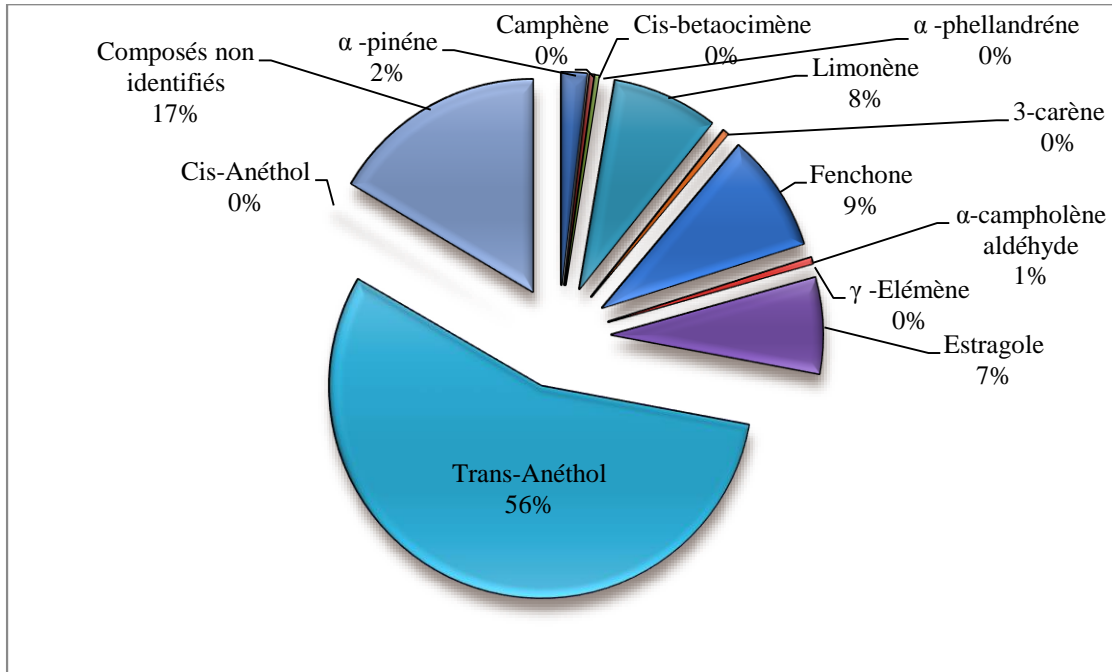


Figure 31 : Pourcentage de différents composants de l'huile essentielle de *pimpinella anisum*

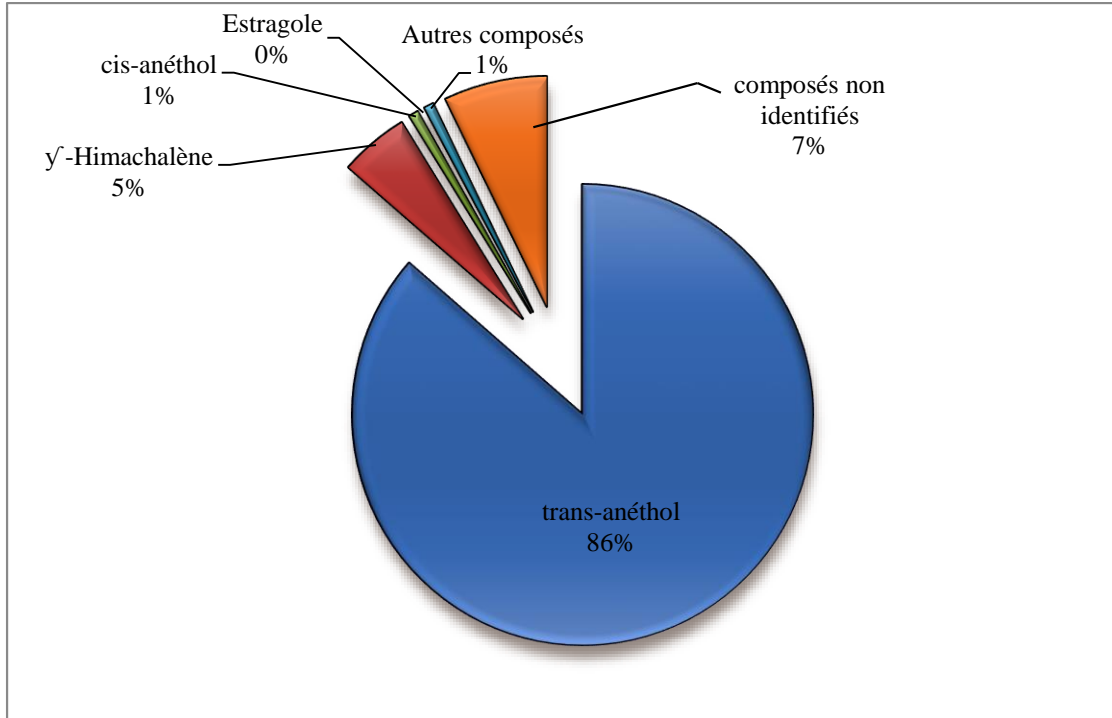


Figure 32 : Pourcentage de différents composants de l'extrait méthanolique de *pimpinella anisum*

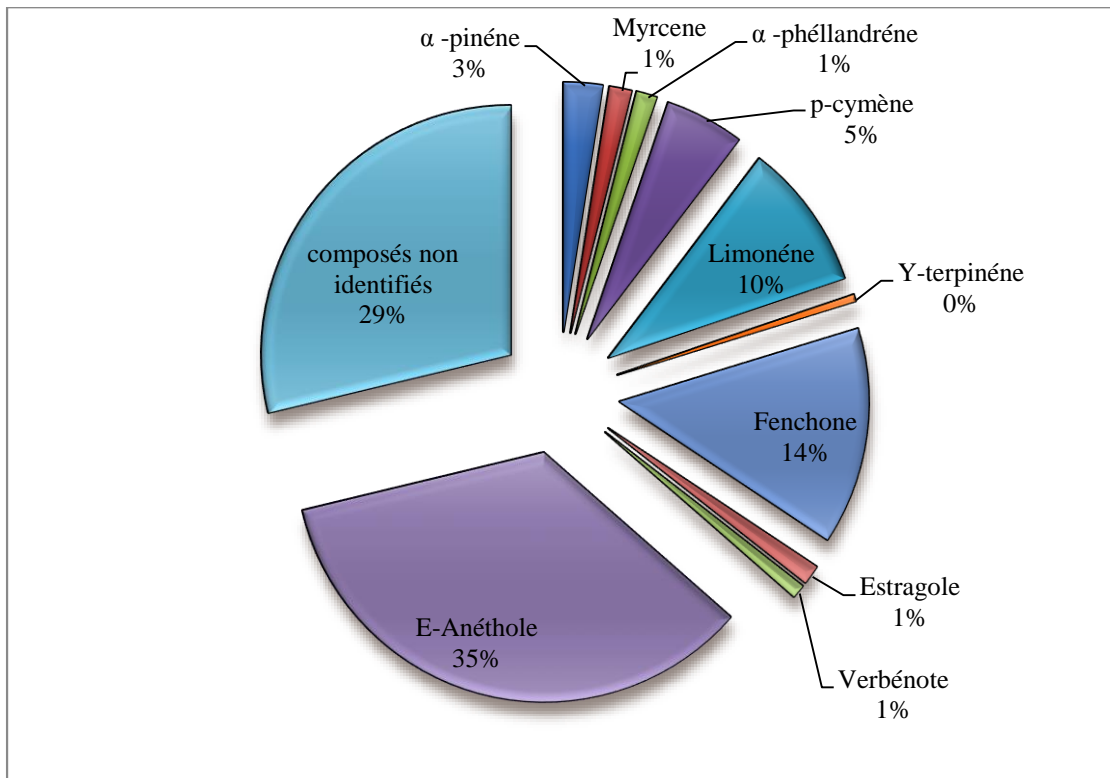


Figure 33 : Pourcentage de différents composants de l'huile essentielle de *foeniculum vulgare*.

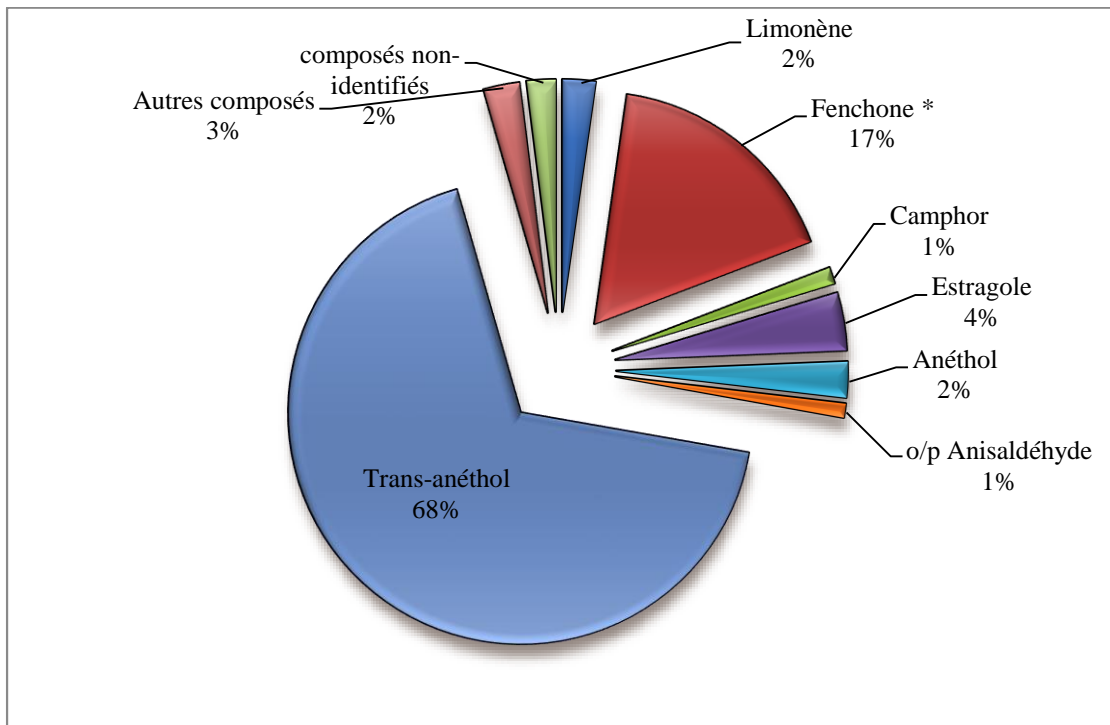


Figure 34 : Pourcentage de différents composants de l'extrait hexanolique de *foeniculum vulgare*.

Tableau 08 : Composition chimique de l'huile essentielle de *pimpinella anisum*.

N°	Composés identifiés	Temps de rétention	Résultats en (%)
1	α -pinéne	8,110	1,81
2	Camphène	8,590	0,36
3	Cis-betaocimène	9,720	0,28
4	α -phellandréne	10,910	0,22
5	Limonène	11,680	8,01
6	3-carène	12,910	0,43
7	Fenchone	14,22	8,99
8	α campholènealdéhyde	16,150	0,47
9	γ -Elémène	18,100	0,11
10	Estragole	18,810	7,25
11	Trans-Anéthol	20,330	55,44
12	Cis-Anéthol	21,600	0,18
Composés totaux identifiés			83,55

Tableau 09 : Composition chimique de l'extrait méthanolique de *pimpinella anisum*

N°	Composés Identifiés	Temps de Rétention	Résultats en (%)
1	Estragole	21,050	0,27
2	Cis-anéthole	21,380	0,66

3	Trans-anéthol	22,480	86,43
4	α -Chamigrène	27,310	0,27
5	γ -Himachalène	29,150	4,82
6	α -Langpinène	30,160	0,15
7	Aomadendrène	31,750	0,21
8	Quarcétal	32,680	0,05
Composés totaux identifiés			92,86

Tableau 10 : Composition chimique de l'huile essentielle de *foeniculum vulgare*.

N°	Détermination	Temps de rétention	Résultats en (%)
1	α -pinéne	8,95min	2,4549%
2	Myrcene	10,54min	1,4335%
3	α -phéllandrène	11,35min	1,3325%
4	p-cymène	11,75min	5,1070%
5	Limonéne	11,92min	9,5032%
6	Y-terpinéne	12,86min	0,4406%
7	Fenchone	13,94min	14,0556%
8	Estragole	18,93min	1,2667%
9	Verbénote	19,13min	0,8992%
10	Composés non-identifiés	19,45min	28,76%
11	E-Anéthole	20,11min	34,7907%
Composés totaux identifiés			71,24%

Tableau 11 : Composition chimique de l'extrait hexanolique de *foeniculum vulgare*.

N°	Composés Identifiés	Temps de Rétention	Résultats en (%)
1	γ -Thugène	8,410	0,11
2	Camphène	9,050	0,09
3	Myrcène	10,120	0,18
4	E - pinène	10,490	0,07
5	D-phèllandrene	10,960	0,01
6	^m / _p Ocymène	11,510	0,31
7	Limonène	11,990	2,25
8	Terpinène	12,750	0,27
9	Fenchone	15,680	16,95
10	Camphor	15,880	1,15
11	Estragole	16,650	4,01
12	Dihydrocarvone	17,090	0,51
13	Fenchylacétate	18,220	0,41
14	D-Carvone	18,800	0,28
15	Anéthol	19,150	2,45
16	^o / _p Anisaldéhyde	22,480	0,95
17	Trans-anéthol	23,710	67,80
18	4-methoxyphénylacétone	26,150	0,11

19	Apiol	27,440	0,10
20	Ambermusk	35,010	0,05
Composés totaux identifiés			98,06

Discussion

Les huiles essentielles et les extraits de l'anis et de fenouil sont d'intérêt croissant pour les industries et la recherche scientifique en raison, d'une part, de leurs activités antioxydantes, (**Dung et al., 2008**), et d'autre part, de leur potentiel thérapeutique contre les maladies inflammatoires telles que les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite (**Maruyama et al., 2005**).

Malgré cette importance, les études de (**Gosselin et al., 1984**), et de (**Lin, 1991**) ont prouvé des effets toxiques des huiles et des extraits à doses élevées sur les êtres humains, mais aussi sur les souris.

Dans ce cadre, notre travail a été consacré à l'extraction et l'identification chimique et phytochimique des huiles essentielles et des extraits de *pimpinella anisum* et de *foeniculum vulgare* ainsi que l'étude de leurs activités antioxydantes.

En premier lieu, l'huile essentielle de *pimpinella anisum* présente un rendement de (1,386 %). Ce rendement est faible par rapport à celui obtenu par (**Ghouati et al., 2012**) pour les fruits de l'anis vert de la région d'Agouray au Maroc (3,00 %), ce qui peut être attribué à leur différentes périodes de récolte. Cependant, l'extraction méthanolique montre un rendement de 5,72%, qui est nettement plus élevé que celui d'(**Ikram, 2014**) qui est de l'ordre de 3,85%, en raison probablement de la différence en composition du sol.

Par ailleurs, le rendement de l'huile essentielle de *foeniculum vulgare* est de l'ordre de 0,419%, ce qui est moins important que celui révélé par (**Roby et al., 2013**) pour les huiles de graines de *foeniculum vulgare* de l'Egypte (1,95%) appartenant à un étage bioclimatique plus aride. Des études menées par (**Munoz-Bortomeu et al., 2006**) ont montré que le rendement en huile essentielle varie en fonction de l'étage bioclimatique. Les conditions d'un climat aride favorisent la biosynthèse des huiles essentielles qu'un climat humide. Par contre, l'extrait hexanolique présente un rendement élevé (4,82%) par rapport à celui enregistré par (**Ikram, 2014**) pour les graines de *foeniculum vulgare* d'Ouargla (Ras-el-Hanout) dont la valeur est de (4,15%).

Toutefois, Le *pimpinella anisum* et le *foeniculum vulgare* sont riches en composés phytochimiques (les tanins, les flavonoïdes, les anthocyanes, les coumarines, les

alcaloïdes, les stérols triterpéniques et les saponosides). L'exposition de la même teneur en polyphénols chez les deux plantes est probablement due à leur appartenance à la même famille végétale (*apiaceae*). Ces polyphénols sont caractérisés par leur propriété anti-oxydante ainsi que leur implication dans la prévention de diverses pathologies associées au stress oxydatif. Un très grand nombre de données expérimentales plaide aujourd'hui en faveur de leur implication dans la prévention des maladies dégénératives telles que cancers, maladies cardiovasculaires, ostéoporose ou maladies inflammatoires (**Rock, 2003 ; Boizot et Charpentier, 2006**).

Cependant, les résultats de l'étude de l'activité anti-oxydante montrent que l'extrait de *foeniculum vulgare* exhibe le pouvoir anti-oxydant le plus fort correspondant à l'IC50 la plus faible (1,076 mg.ml⁻¹). Concernant le *pimpinella anisum*, l'huile essentielle présente une activité anti-oxydante forte (IC50 = 5,484mg.ml⁻¹), proche à celle obtenue par les travaux menés par (**Ikram, 2014**) (6,25mg.ml⁻¹), alors que l'extrait exhibe un pouvoir anti-oxydant (IC50 = 1,879mg.ml⁻¹) faible par rapport aux résultats révélés par (**Nickavar et Abolhasani, 2009**) (IC50 = 0,11mg.ml⁻¹). Quant au *foeniculum vulgare* l'huile essentielle montre une importante activité anti-oxydante (IC50 = 5,196 mg.ml⁻¹) assez proche à celle exprimée par le travail de (**Jdidi, 2015**) (IC50 = 6,12 mg.ml⁻¹) sur les huiles essentielles du *foeniculum vulgare* de Tébourouk en Tunisie. Par ailleurs l'extrait montre un pouvoir anti-oxydant proportionnellement faible comparé à celui révélé par les résultats de (**Nickavar et Abolhasani, 2009**) (IC50 = 0,20 mg.ml⁻¹) sur le *foeniculum vulgare* de l'Iran. Cela peut être attribué à la diversité en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes, anthocyanes et coumarines dans les deux plantes.

Suite à l'analyse par la CPG/SM, cette technique a mis en évidence l'existence de multiples composés chimiques dans les huiles et les extraits de *pimpinella anisum* et de *foeniculum vulgare*. D'après nos résultats, le trans-anéthol (55,44%), le fenchone (8,99%), et le limonène (8,01%) s'avèrent être les constituants majeurs de l'huile de *pimpinella anisum* ce qui ne se concorde pas avec les résultats obtenus par (**Orav et al., 2008**) qui ont confirmé plutôt la présence de trans-anéthol 76,9% et d' γ -himachalène (8,2%) en grande quantité dans les huiles. De plus les résultats de la composition chimique en extrait de *pimpinella anisum* se sont caractérisés par la présence en grand pourcentage de trans-anéthole (86,43%), suivi d' γ -himachalène

(4,82%), ceci corrobore avec les travaux de **(Rodrigues et al., 2003)** qui ont montré l'existence en composés majoritaires, le trans-anéthol à (90%), suivi d' γ -himachalène à (4%) dans l'extrait de *pimpinella anisum* de l'Italie.

On note également que le trans-anéthol (34,7907%) est le groupe chimique majoritaire dans l'huile essentielle de *foeniculum vulgare*, suivi de fenchone (14,0556%) et de limonène (9,5032%). **(Napoli et al., 2010)** rapportent que l'huile essentielle extraite des graines de *foeniculum vulgare* de la région de "Val di Noto" de l'Italie se caractérise par un chémotype différent de notre espèce. En effet, la composition de cette huile essentielle est riche en estragole (71,1%), en fenchone (14,3%) et en limonène (4,3%). Cependant l'extrait renferme le pourcentage le plus élevé en trans-anéthol avec une teneur de (67,80%), suivi de fenchone (16,95%) et d'estragol (4,01%) ce qui ne s'accorde pas avec les résultats de **(Gross et al., 2009)** qui ont rapporté que l'extrait contient majoritairement le trans-anéthol, suivi de fenchone, puis d'estragole avec respectivement les proportions 23.6%, 13,6% et 2.3%.

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales riches en principes actifs trouvent des applications dans de nombreux domaines notamment dans le domaine alimentaire et médical. La tendance actuelle à chercher des produits naturels, a entraîné un regain d'intérêt des scientifiques pour les substances issues des plantes médicinales.

Dans ce sens, ce travail a pour objectif d'évaluer et comparer les huiles et les extraits de deux plantes largement connues dans le domaine agro-alimentaire et médicinal selon les critères de leur rendement, de leur teneur en composés phytochimiques, mais également en fonction de leur activité anti-oxydante et leur composition chimique.

En premier lieu, la détermination des rendements d'extractions a montré que les graines de *pimpinella anisum* se caractérisent par un rendement plus important en huile et en extrait par rapport à celui de *foeniculum vulgare*. De plus les résultats obtenus ont révélé que les rendements des deux plantes en extrait sont plus importants qu'en huile essentielle. Ce qui indique que la méthode du soxhlet est plus rentable que l'hydrodistillation.

En deuxième lieu, Les deux plantes exhibent une diversité en matière des composés phytochimiques bioactifs.

En outre, l'évaluation de l'activité anti-oxydante des huiles et des extraits par la méthode de DPPH a montré que le *foeniculum vulgare* présente le pouvoir anti-oxydant le plus fort.

En conclusion, l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles et des extraits méthanoliques par la CPG/SM a montré que les deux plantes sont largement riches en trans-anéthol et particulièrement plus abondant chez le *pimpinella anisum*.

Les résultats obtenus méritent donc d'être complété en vue d'une éventuelle utilisation dans le domaine médical et alimentaire.

En termes de perspectives, il serait envisageable d'entreprendre les axes de recherche suivants :

-Evaluer l'activité antioxydante par d'autres méthodes telles que le blanchissement de la β -carotène, la mesure du pouvoir réducteur.

-Identification par HPLC et caractérisation par RMN des principales molécules antioxydantes de *pimpinella anisum* et de *foeniculum vulgare*.

-La recherche d'autres activités biologiques particulièrement anti-inflammatoire et anti-tumorale.

Références bibliographiques:

1. **Abdelrazeg Hamidi, 2013.** Mémoire présenté pour obtenir le diplôme de magister en chimie organique. Université kasdi Merbah-Ourgla.
2. **Abdul-Ghani, S. G. El-Lati, and A. I. Sacaan, 1987.** “Anticonvulsant effects of some Arab medicinal plants,” *International Journal of Crude Drug Research*, vol. **25**, no. **1**, pp. 39–43.
3. **AFNOR, 2000.** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (**Tome 1**), Monographies relatives aux huiles essentielles (**Tome 2. Volumes 1 et 2**).
4. **Agarwal, R., Gupta, S.K., Agarwal, S.S., Srivastava, S., Saxena, R., 2008.** Oculohypotensive effects of *Foeniculum vulgare* in experimental models of glaucoma. *Indian J. Physiol. Pharmacol.* **52**, 77–83.
5. **Aiyegoro O.A. and A. I. Okoh, 2010.** *BMC Complement Altern. Med.*, 10, 21.
6. **Akhtar, A. A. Deshmukh, A. V. Bhonsle., 2008.** “In vitro Antibacterial activity of *Pimpinella anisum* fruit extracts against some pathogenic bacteria,” *Veterinary World*, vol. **1**, no. **9**, pp. 272–274.
7. **Akrout A, El Jani H, Amouri S, Neffati M. 2009.** Screening of antiradical and antibacterial activities of essential oils of *Artemisia campestris* L., *Artemisia herba-alba* Asso. and *Thymus capitatus* Hoff et Link. growing wild in the southern of Tunisia. *Recent Res Sc & Technol* **2**: 29-39.
8. **Al-Ismail and T. Aburjai, 2004.** “Antioxidant activity of water and alcohol extracts of chamomile flowers, anise seeds and dill seeds,” *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. **84**, no. **2**, pp. 173–178.

9. **Al-Bayati,2008.** “Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts,” *Journal of Ethnopharmacology*, **vol. 116,no. 3**, pp. 403–406.
10. **Al Mofleh, A. A. Alhalder, J. S. Mossa, M. O. Al- Soohalbani, and S. Rafatullah, 2007.**“Aqueous suspension of anise “*Pimpinella anisum*” protects rats against chemically induced gastric ulcers,” *World Journal of Gastroenterology*, **vol. 13, no.7**, pp. 1112–1118.
11. **Amimar Z., Lamarti A., Badoc A., Reduron J.P., Ouahabi S. and Muckensturm B., 2001.**Clonage du fenouil doux par culture d'apex. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 140, pp.43-58.
12. **AprotosoiaA.C., Spac A.D., Hancianu M., Miron A., Tanasescu V.F., Dorneanu V. et Stanescu U., 2010.** The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *FARMACIA*, **Vol.58 (1)** ; pp. 46-54.
13. **Arpino P., Prevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. et Wittier P., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris.
14. **Arvy M.P. et Gallouin F., 2003.** Epices, aromates et condiments : 412p. France Paris. Belin N°003063. France.Paris : 412p.
15. **Ates and O . T. Erdogrul,2003.** “Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extracts,” *Turkish Journal of Biology*, **vol. 27**, pp. 157–162.
16. **Badoc A., AmimarZ., Lamarti A. et Deffieux G., 1998.** Action de la colchicine lors de la micropropagation du fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.) sur l'huile essentielle des fruits. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, **137**, pp. 25-36.

17. **Barry N., 2001.** Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi-même, pp. 125-128.
18. **Belyagoubi L., 2006.** Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales. Mémoire de magister. Université Abou Bekr Belkaid, 110p.
19. **Benazedine S., 2010.** Activité insecticide de cinq huiles essentielles vis à vis de *Sitophilusoryzae* (coleoptera ; Curculionidae) et *Triboliumconfusum* (Coleoptera ; Tenebrionidae). Ecole nationale supérieure agronomique El Harrach Algérie.
20. **Benini C., 2007.** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, 109p.
21. **Bernath G, Géza Stájer, Angela E. Szabó, Pál Sohár, 1996.** Journal of Molecular Structure, **Volume 415**, Issues 1–2, Pages 29-36.
22. **Berthier A., 1980 :** Epices-aromates leurs huiles essentielles et oléorésines. parfums, cosmétiques, arômes n°34- août/septembre 1980 ; pp 39-44.
23. **Besharati Seidani, A. Jabbari, and Y. Yamini, 2005.** "Headspace solvent microextraction: a very rapid method for identification of volatile components of Iranian *Pimpinella anisum* seed," *Analytica Chimica Acta*, vol. 530, no. 1, pp. 155–161.
24. **Boizot N., Charpentier J. 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des oranges d'un arbre forestier. Méthodes et outils pour l'observation et l'évaluation des milieux forestiers, prairiaux et aquatiques, INRA, 79-82.

25. **Boskabady and M. Ramazani-Assari,2001.** “Relaxant effect of Pimpinella anisum on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s),” *Journal of Ethnopharmacology*, **vol. 74, no. 1**, pp. 83–88.
26. **Bousbia Nabil ,2011.**Thèse Doctorat : Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Université d’Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique. Spécialité, Chimie.
27. **BrigitteSpeck ,Ursula & Christian Fotsch, 2012.** Connaissance des herbes, EGK-Caisse de Santé.
28. **BrigitteSpeck ,Ursula & Christian Fotsch, 2008.** Connaissance des herbes, EGK-Caisse de Santé.
29. **Brisset J.L., 2011.** Chimie analytique en solution : Principes et applications, Lavoisier, **2^{ème} édition.**
30. **Bruneton,J.,1999.** Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed Techniques et documentations. Paris. pp: 227-310-312-313-314.494.
31. **Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Paris : éditions médicales internationales. **Editions** Tec et Doc Lavoisier.409-417.
32. **Bub S, Brinckmann J, Cicconetti G, Valentine B., 2006.**Efficacy of an herbal dietary supplement (Smooth Move) in the management of constipation in nursing home residents: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. **7(9):556-61.**
33. **Chaudhryand P. Tariq,2006.** “Bactericidal activity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates,” *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **vol. 19, no. 3**, pp. 214–218.
34. **Chhabra,S.C., Shao, J.F., Mshiu, E.N., 1982.** Antifungal activity among traditionally used herbs in Tanzania. *The Dar Medicinal Journal* 9, 68–73.
35. **ChowdhurySanchita Sharmin, Md. Al-Amin, Mariam Jamila, Samiul Haque, Taksim Ahmed and Mohammed Ehsanul., Hoque Mazumder., 2009.** Infrared spectroscopic characterization, free radical scavenging and

- cytotoxic evaluation of chitosan extracted from *Penaeus monodon* shells. Stamford Journal of Pharmaceutical Sciences.
36. **Cicile J.-C., 2002** :Distillation. Absorption Etude pratique. Techniques de l'ingénieur **J 2610** pp 1-20.
37. **Cicile J.-C., 1994** :Distillation. Absorption 1. Généralités sur les colonnes de fractionnement. Techniques de l'ingénieur **J 2621** pp 1-3.
38. **Citerne Anne-Gaëlle, Eholie Christine, Fauvarque Cécile, Laroche Séverine, Le Quang, Jacqueline, Nssoga Emilie; 2002.** Anis de Flavengy.
39. **Cristina Caleja, Lillian Barros a, Amilcar L. Antonio, Ana Ciric Marina Sokovic', M. Beatriz P.P. Oliveira b, Celestino Santos-Buelga d, Isabel C.F.R. Ferreira., 2014.** *Foeniculum vulgare* Mill. as natural conservation enhancer and health promoter by incorporation in cottage cheese.
40. **Crouzet J., 1998** : Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur F 4 100, pp : 118.
41. **Debray, M., H. Jacqiemmin & R. Razafindrambao., 1971.** Contribution 1 l'inventaire des plantes médicinales de Madagascar. nav. & Documents ORSTOM **8**. 150 pp., 68 pp. notes, 41 pp. tests, 2 index.
42. **De Figueiredo A.C , Barrosso J.G, Pedro LG & Scheffer J.C, 2008.** Factory affecting secondary metabolites production in plants : volatile components and essential oils *Flavour Fragrance Journal* **Vol.23** : 213-226.
43. **Diaaz-Maroto M.C., Pearez-Coello M.S., Esteban J. et Sanz J., 2006.** Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Central Spain. *J.48 Agric. Food Chem.* **54**, 6814-6818.
44. **Dhar K., 1995.** Anti-fertility activity and hormonal profile of trans-anethole in rats. *Indian J. Physiol Pharmacol*; **39**:63-7.

45. **DjeddiS., 2012.** Les huiles essentielles des mystérieux métabolites secondaires. Presses Académiques Francophones. 265 p.
46. **Dohou, N., K. Yamni, S. Tahrouch , L. M. Idrissi Hassani, A. Badoc & N. 2003.**Screening phytochimique d'une endémique ibéro marocaine, *Thymelaea lythroïdes*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux **142**: 61-78.
47. **Dung N.T., Kim J.M. and Kang S.C., 2008.** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. Food and Chemical Toxicology **46**: pp.3632-3639.
48. **EFSA, 2009.**EFSA Scientific cooperation (ESCO) working group on botanicals and botanical preparations ; Advice on the EFSA guidance document for the safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as food supplements, based on real case studies on request of EFSA. EFSA Journal, **7 (9)** : 280 ; 104p.
49. **Flamini G., Cioni P.L., Morelli i., Macchia M., et Ceccarini L., 2002.**Main
50. Agronomic – Productive characteristics of two ecotypes of *Rosmarinus officinalis* L.
51. and chemical composition of their essential oils. J. Agric. Food Chem., Vol. 50, pp :
52. 3512–3517.
53. **Federica Menichini,Rosa Tundis, Monica R. Loizzo, Marco Bonesi, Mariangela Marrelli, Giancarlo A. Statti, Francesco Menichini, Filomena Conforti, 2009.**Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibition of ethanolic extract and monoterpenes from *Pimpinella anisoides* V Brig. (Apiaceae) Department of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmacy, Nutrition and Health Sciences, University of Calabria, Italy.
54. **Garnero J., 1996.**Huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur K345 pp 1-45.
55. **GeismanT. M.1962.** Chemistry of Flavonoid compounds. Macmillan co, New York.

56. **Ghouati Yasmine, Touriya Belaiche, Mohammed Ouhssine, Ali Amechrouq, Abdessalem Tahiri, Said Chakir, 2012.** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de fruits d'anis vert marocain. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, **151(1-4)**, 25-34.
57. **Gilligan, 2005.** "The palliation of nausea in hospice and palliative care patients with essential oils of *Pimpinella anisum* (aniseed), *Foeniculum vulgare* var. dulce (sweet fennel), *Anthemis nobilis* (Roman chamomile) and *Mentha x piperita* (peppermint)," International Journal of Aromatherapy, **vol. 15, no. 4**, pp. 163–167.
58. **Girre, 2006.** Les plantes et les médicaments : l'origine végétale de nos médicaments, Delachaux et Niestlé, Paris, 253 pp.
59. **Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC., 1984.** Clinical Toxicology of commercial products 5th Ed . Baltimore: Williams and Wilkins; II-230.
60. **Gross, M., Lewinsohn, E., Tadmor, Y., Bar, E., Dudai, N., Cohen, y., Friedma, J., 2009.** The inheritance of volatile phenylpropenes in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. vulgare Apiaceae) chemotypes and their distribution within the plant. Biochem. Syst. Ecol. 37, 308–316.
61. **Gulcin I, Oktay M, Kirecci E, m Irfan Kufrevioglu O, 2002.** Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. Food Chemistry ;**83**;371-382.
62. **Gulcin, M. Oktay, E. Kirecci, and O. I. Kufrevioglu, 2003.** "Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts," Food Chemistry, **vol. 83, no. 3**, pp. 371–382.
63. **Hagan EC, Hansen WH, Fitzhugh OG, Jenner PM, Jones WI, Taylor JM., 1967.** Food flavourings and compounds of related structure. ii. Subacute and chronic toxicity. Food Cosmet Toxicol;5:141-57.

64. **Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., Okuda, T. 1988.** Two new flavonoids and other constituents in licore root: their relative astringency and radical scavenging affects. *Chem. Pharm. Bull.*; **36**: 1090-2097.
65. **Heidariand M. Ayeli, 2005.** "Effects of methyl alcoholic extract of *Pimpinella anisum* on picrotoxin induced seizure in mice and its probable mechanism," *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Science*, **vol. 10, no. 3**, pp. 1–8.
66. **Hendawy S.F. and Ezz El-Din A.A., 2010.** Growth and yield of *Foeniculum vulgare* var. *azoricum* as influenced by some vitamins and amino acids. *Ozean Journal of Applied Sciences* **3(1)**, pp.113-122.
67. **IkramAtti. 2014.** Mémoire pour l'obtention de Master Academique à l'université de Kasdi Merbah Ouargla sous le thème "Evaluation des activités antioxydant et antiradicalaire d'un mélange d'épices Ras el hanout ". Domaine, Sciences de la Nature et de la Vie. Spécialité, Biochimie Appliquée.
68. **IvanKosalec. Stjepan Pepeljnjak. Danica Kustrak. 2005.** Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia ,Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae).
69. **Jaffer, H. J. M. J. Mahmud, A. M. Jawad, A. Naj and A. Al Naib, 1983.** Fitoterapia.
70. **Jdidi Imen, 2015.** Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme national d'ingénieur. Option : Science de la production végétale. Intitulé : "Etude phytochimique et activité biologiques des extraits et des huiles essentielles du *Foeniculum Vulgare*". Tunisie.
71. **Kaur G.J. et Arora D.S., 2010.** Bioactive potential of *Anethumgraveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum mammi* belonging to the family Umbelliferae - Current status. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. **4(2)**, pp. 087-094.
72. **Khan M. Masroor A. , Nadeem Hashmia, Moinuddina, Mohd Idreesa, Zeba H. Khana, Akbar Ali, Lalit Varshneyb. 2012.** Depolymerized

carrageenan ameliorates growth, physiological attributes, essential oil yield and active constituents of *Foeniculum vulgare* Mill. **Elsevier**.

73. **Kosalec, S. Pepeljnjak, and D. Kuatrak, 2005.** “Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae),” **Acta Pharmaceutica**, vol. **55**, no. **4**, pp. 377–385.
74. **Kothe H.W., 2008.** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre **editions**. Toulouse, 328p.
75. **Kreydiyyeh, J. Usta, K. Knio, S. Markossian, and S. Dagher, 2003.** “Aniseed oil increases glucose absorption and reduces urine output in the rat,” *Life Sciences*, vol. **74**, no. **5**, pp. 663–673.
76. **Lahlou M., 2004.** Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research* **18** : pp. 435-448.
77. **Lazouni H.A., Benmansour A., Taleb-Bendiab S.A. & Chabane Sari D., 2007.** Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill. *Sciences & Technologie C – N°25*, pp.7-12.
78. **Le Bourhis B. 1973.** Propriétés biologiques du trans-anethole. Essai de détermination de la dose journalière acceptable. *Parfums Cosmet Sav Fr*;3:450-6.
79. **Lee, 2004.** “p-anisaldehyde: acaricidal component of *Pimpinella anisum* seed oil against the house dust mites *Dermatophagoides farinae* and *Dermatophagoides pteronyssinus*,” *Planta Medica*, vol. **70**, no. **3**, pp. 279–281.
80. **Leybros J. et Fremeaux P., 1990** : Extraction solide-liquide, aspect théorique.
81. *Techniques de l'ingénieur J 2780* pp 7-8.
82. **Lin FSD. 1991.** Trans-anethole. In: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Toxicological evaluation of certain food additives and

- contaminants. WHO Food Additives Series **28**. Geneva: World Health Organization:135-52.
83. **Marino,S.D., Gala, F., Borbone, N., Zollo, F., Vitalini, S., Visioli, F., Iorizzi, M., 2007.**Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity. *Phytochemistry* **68**, 1805– 1812.
84. **Maruyama, N.; Sekimoto, N.; Ishibashi, H. 2005.** Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *J. inflamm*, 2,1-11.
85. **Masuda,T.; Yonemori, S.; Oyama, Y.; Takeda, Y.; Tanaka, T.; Andoh, T.; Shinohara, A.; Nakata, M.1999.**Evaluation of the antioxidant of environmental plants: activity of the leaf extracts from seashore plants. *J. Agric. Food Chem*, **47**, 1749–1754.
86. **Mohammad S, Abu-Darwish and Abu-Dieyeh Z.H.M., 2009.** Essential oil content and heavy metals composition of *Thymus vulgaris* cultivated in various climatic regions of Jordan. *Int. J. Agric. Biol.*, **Vol. 11, N° 1**, pp.59-63.
87. **Möller K., 2008** : La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.
88. **Mosera,Bryan R., Valtcho D. Zheljzkovb, Erica L. Bakotaa, Roque L. Evangelistaa,Archana Gawdec, Charles L. Cantrellc, Jill K. Winkler Mosera,Alexander N. Hristovd, Tess Astatkiee, Ekaterina Jeliaskova,2014.**Method for obtaining three products with different properties fromfennel (*Foeniculum vulgare*) seed.
89. **Munoz-Bertomeu J, Arrillaga I et Segura J., 2006.**Essential oil variation within and among naturel populations of *Lavandulalotifolia* and its relation to their ecological areas, *Biochemical systematics and ecology*, 1-10.

90. **Napoli E.M., Curcuruto G., Ruberto G., 2010.** Screening the essential oil composition of wild Sicilian fennel. *Biochemical systematics and ecology* **38** : 213-223.
91. **Nazia Masood,Ahmed Chaudhryand Perween Tariq, 2006.** Department of Microbiology, University of Karachi, Karachi-75270, Pakistan, Bactericidalactivity of black pepper, bay leaf, aniseed and coriander against oral isolates.
92. **NgamprasertsithS. 1993.**Extraction par solvant à partir de matières végétales en colonnepulsée à disques et couronnes. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique deToulouse.
93. **Nickavarand F. A. S. Abolhasani,2009.**“Screening of antioxidant properties of seven Umbelliferae fruits from Iran,” *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **vol. 22, no. 1**, pp. 30–35.
94. **NickavarBahman and Farideh Al-sadat Abolhasani,2009.**Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Shahid Beheshti University (M.C.), PO Box: 14155-6153, Tehran, Iran. screening of antioxidant properties of seven umbelliferae fruits from iran. *Pak. J. Pharm. Sci.*, **Vol.22, No.1**,pp.30-35.
95. **Olle M. et Bender I., 2010.**The content of oils in Umbelliferous crops and its formation. *AgronomyResearch* **8 (3)**, pp.687-696.
96. **Orav,A. Raal, and E. Arak,2008.**“Essential oil composition of Pimpinella anisum L. fruits from various European countries,” *Natural Product Research*, **vol. 22, no. 3**, pp. 227–232.
97. **Park,K. S. Choi, D. H. Kim,2006.** “Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*A Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae),” *Pest Management Science*, **vol. 62, no. 8**, pp. 723– 728.

98. **Pellerin P., 1991** : Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. *Perfum. Flav.*, **Vol. 16**, pp : 37 – 39.
99. **Pellerin P., 2001** :Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim. V. 94, N°954* – pp : 51-62.
100. **Perrut M., 1999** :Extraction par fluide supercritique. Les techniques de l'ingénieur. J 2 770.
101. **Peyron I., 1992** : Techniques classiques actuelles de fabrication des matières premières naturelles aromatiques. Chapitre 10, pp 217 – 238. Cité In : Les arômes alimentaires. Coordinateurs RICHARD H. et MULTON J.-L. Ed. Tec & Doc-Lavoisier et Apria. 438 p.
102. **Picon PD, Picon RV, Costa AF, Sander GB, Amaral KM, Aboy AL, Henriques AT. 2010.**Randomized clinical trial of a phytotherapeutic compound containing Pimpinella anisum, Foeniculum vulgare, Sambucus nigra, and Cassia augustifolia for chronic constipation;10:17.
103. **Pottier-AlapetiteG., 1979.** Flore de la Tunisie : Angiospermes - Dicotylédones. Apétales. Dialypétales. Edit. Imprimerie officielle de la République Tunisienne. Tunis : 651p.
104. **Pourgholami MH, Majizoob S, Javadi M, Kamalinejad M., Fanae GHR, Sayyah M.1999.**The fruit essential oil of Pimpinella anisum exerts anticonvulsivant effects in mice. *J, Ethnopharmacol* ;**66**;211-215.
105. **Prior, R.L.; Wu, X.; Schaich, K.2005.**Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food Chem*, **53**, 4290–4303.
106. **Rajeshwari,M.Abirami, and B. Andallu,2011.**“In vitro and in vivo antioxidant potential of aniseeds (Pimpinella anisum),” *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, **vol. 2, no. 1**, pp. 80–89.

107. **Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C., Bardat J., Bruno . et Keller R., 2008.** Flore forestière française : Région méditerranéenne, Forêt privée française, Paris, 2426p.
108. **Rather, M.A., 2012.** *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*.
109. **Rejeb M.N, Khouja M.L, Ghrabi Z, Chemli R, Albouchi A, Khaldi A et Dahmen M., 2006.** Guide des plantes médicinales et aromatiques, Maghreb.
110. **Rajeshwari, M. Abirami, and B. Andallu, 2011.** "In vitro and in vivo antioxidant potential of aniseeds (*Pimpinella anisum*)," *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, vol. 2, no. 1, pp. 80–89.
111. **Rashid, U., S. Ali, G.M. Ali, N. Ayub and M.S. Masood. 2009.** Establishment of an efficient callus induction and plant regeneration system in Pakistani wheat (*Triticum aestivum*) cultivars. *Electronic J. Biotech.*, 12.
112. **Roby M.H.H, Sarhan M.A, Selim K.A-H et Khalel K.I., 2013.** Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products*, 44 : 437- 445.
113. **Rock E., 2003.** Stress oxydant, micronutriments et santé. Inra – CRNH, unité des maladies métaboliques et micronutriments 63122 St Genès Champanelle. Université d'été de nutrition Clermont- Fenand , 37-42.
114. **Rodrigues VM, Rosa PTV, Marques M.O.M, Petenate AJ, 2003.** Meireles MAA Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum* L) using CO₂ : solubility, kinetics, and composition data. *J Agr Food Chem* 51: 1518–1523.

115. **Salle J-L., 2004** : Les huiles essentielles, synthèse d'aromathérapie. Editions Frison-Roche, **2ème édition**. 220 p.
116. **Silvant C. 2015**. L'Aromathérapie : La nature au service de l'humanité, Paris, 208p.
117. **Singh, I. P. S. Kapoor, P. Singh, C. S. de Heluani, and C. A. N. Catalan, 2008**. "Chemical composition and antioxidant potential of essential oil and oleoresins from anise seeds (*Pimpinella anisum* L.)," *International Journal of Essential Oil Therapeutics*, **vol. 2, no. 3**, pp. 122–130.
118. **Shukla HS, Tripathi SC. 1987**. Antifungal substance in the essential oil of anise (*Pimpinella anisum* L.). *Agric Biol Chem* **51(3)**.
119. **Speisky, C. Rocco, C. Carrasco, E. A. Lissi, and C. L'opez-Alarc, 2006**. "Antioxidant screening of medicinal herbal teas," *Phytotherapy Research*, **vol. 20, no. 6**, pp. 462–467.
120. **Stefanini M.B, Ming L.C, Marques M.O.M, 2003**. Meireles M.A.A, Moura L.S and Marchese J.A., 2006. Seed productivity, yield and composition of the essential oil of fennel *Foeniculum vulgare* var. *dulcis* in the season of the year. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, **Vol.8**, pp.86-90.
121. **Tas., 2009**. "Analgesic effect of *Pimpinella anisum* L. essential oil extract in mice," *Indian Veterinary Journal*, **vol. 86, no. 2**, pp. 145–147.
122. **Tchoumboung F, Jazet Dongmo .P.M Sameza M.L, Nkouaya. Mbanjo E.G Tiako Fosto G.B, Amvam Zollo P.H & Menut C., 2009**. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnologie, Agronomie Société et Environnement*. Vol **13 (1)** : 77-84.
123. **Techniques de l'Ingénieur**, l'expertise technique et scientifique de référence, Journal numéro : 2782.

124. **Telci, I., Demirtas, I., Sachin, 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.
125. **Teuscher E., Anton R., Lobstein A., 2005.** *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Tec & Doc, Paris, 522 pp.
126. **Tirapelli, C. R. de Andrade, A. O. Cassano, 2007.** “Antispasmodic and relaxant effects of the hidroalcoholic extract of *Pimpinella anisum* (Apiaceae) on rat anococcygeus smooth muscle,” *Journal of Ethnopharmacology*, **vol. 110, no. 1**, pp. 23–29.
127. **Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M., Barocelli, E., 2007.** Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacol. Res.* **56**, 254–260.
128. **Treiner J., 2000.** Glossaire de la classe de Seconde. *Bulletin Officiel*, **6** : 25- 35.
129. **Trease GE, Evans WC. 1987.** *A text book of Pharmacognosy*. Tindal, Oxford: ELSB/Bailliere.
130. **Tuckler V, Peck C, Nesbit C., Coleman M, Weimer S, Martinez J, Ryan M, Arnold T. 2002.** Seizure in an infant from aniseed oil toxicity. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* ; **40(5)**; 689.
131. **Twaij, E. E. Elisha, R. M. Khalid, and N. J. Paul, 1988.** “Analgesic studies on some Iraqi medicinal plants,” *International Journal of Crude Drug Research*, **vol. 25, no. 4**. pp. 251–254.
132. **Vienna C.F, Bauer R, Carle R, Tedesco D, Tubaro A and Zitterl-Eglseer K., 2005.** Assessment of plants/herbs, plant/herb extracts and their naturally or synthetically produced components as "additives" for use in animal production. *FEEDAP* ; 297p.

133. **Viuda-Martos, M., Mohamady, M. A., Fernández-López, J., Abd ElRazik, K. A., Omer, E. A., Pérez-Alvarez, J. A., 2011.** In vitro antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants *Food Control*, 22, 1715e1722.
134. **VonSkramlik E. Ober die Giftigkeit and Vertraglichkeit von atherischen Olen. 1959.** *Pharmazie*;14:435-45.
135. **Wichtl M., Anton R., 2003.** *Plantes thérapeutiques*, 2e édition, Tec & Doc, Paris, 692 pp.
136. **Wijesekara R.O.B., Ratnatunga C.M., Durbeck K., 1997.** The distillation of
137. essential oils. *Manufacturing and plant Construction Handbook*. Eschborn, Federal
138. Republic of Germany, Protrade, Department of foodstuffs & Agriculturak Products.
139. **Yamagishi, K. Hayashi, and T. Hayashi, 2011.** “Antiviral and immunostimulating effects of lignin-carbohydrateprotein complexes from *Pimpinella anisum*,” *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, vol. 75, no. 3, pp. 459–465.
140. **Yazdani, S. Rezazadeh, G. Amin, M. A. Zainal Abidin, S. Shahnazi, and H. Jamalifar, 2009.** “Antifungal activity of dried extracts of anise (*Pimpinella anisum* L.) and star anise (*Illicium verum* Hook, f.) against dermatophyte and saprophyte fungi,” *Journal of Medicinal Plants*, vol. 8, no. 5, pp. 24–29.

141. **Zahid N.Y, Abbasi N.A, Hafiz I.A et Ahmad Z., 2009.** Genetic diversity of indigenous fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Germplasm in Pakistan assessed by RAPD markers. *Pak. J. Bot.*, **41(4)** : pp.1759-1767.

142. **Zcanand J. C. Chalchat, 2006.** “Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum* L.) fruit oil at ripening stage,” *Annals of Microbiology*, **vol. 56, no. 4**, pp. 353– 358,

143. **Zeller, A., Rychlik, M., 2006.** Character impact odorants of fennel fruits and fennel tea. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 3686–3692.