REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université du 20 août 1955 - SKIKDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire de Master

Filière : Chimie - Spécialité Chimie Organique

Présenté par :

BEGHEIL Meriem

MOKHNACHE Racha

Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*.

Soutenu le : 07/07/2026

Devant le jury :

Dr. CHEKKAL Faiza	MCA	Univ. de Skikda	Présidente
Dr. MEGUELLATI Amel	MCB	Univ. de Skikda	Rapportrice
Dr. MELAIS Nedjma	MCA	Univ. de Skikda	Examinatrice

Année Universitaire : 2025/2026

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu le Tout-Puissant de nous avoir donné la force, la patience et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice,
Dr. MEGUELLATI Amel, pour son encadrement, sa disponibilité, ses conseils précieux et son accompagnement tout au long de ce travail.

Nous remercions l'ensemble des membres du jury de ce mémoire :
Dr. CHEKKAL Faiza, de nous avoir fait l'honneur, de présider ce jury et
Dr. MELAIS Nedjma, qui nous a accordé de son temps pour examiner ce travail.

Nous tenons à présenter nos remerciements à Pr. ZAGHDOUDI Rachida et Dr. LAIB Imane pour leur aide.

Nous exprimons notre reconnaissance à l'ingénieure du laboratoire CHENNIKI Samira pour son aide précieuse et sa disponibilité.

Nous remercions également l'ENSET de Skikda pour avoir accepté notre demande de réaliser certaines expériences dans ses laboratoires. Nous adressons un remerciement particulier à l'ingénieure Imen, pour son accueil, son aide et les facilités qu'elle nous a accordées afin de mener à bien nos travaux expérimentaux.

Nous exprimons également nos remerciements à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide et leur soutien, de près ou de loin, durant la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes qui m'ont soutenue et accompagnée tout au long de cette aventure.

À mes chers parents, mes premiers soutiens, pour leur amours, leurs sacrifices, leurs encouragements et leur confiance en moi.

À mon cher frère Yousef Chahine et à mes chères sœurs, pour leur présence, leur affection et leur soutien constant.

À toute ma famille.

À mes amies, pour leur amitié sincère et leur présence à mes côtés dans les moments les plus importants.

Racha

Dédicace

Après ce long parcours de travail et d'efforts, je tiens à exprimer ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

À mes parents, pour leur amour et leur soutien constant.

À mes frères et sœurs, pour leur présence et leurs encouragements.

À ma chère encadrante, pour ses conseils et son suivi de ce travail.

À ma collègue Racha, pour sa collaboration dans la réalisation de ce travail.

À ma chère amie, pour son soutien et sa présence à mes côtés.

Meriem

Résumé

Les huiles essentielles sont des substances naturelles riches en composés bioactifs et sont largement utilisées dans les industries pharmaceutique, alimentaire et cosmétique en raison de leurs nombreuses propriétés biologiques. Cette étude visait à comparer les huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*, en évaluant leur rendement d'extraction, leur composition phytochimique et leur activité antioxydante, ainsi qu'à étudier l'effet de leur formulation sous forme de mélange.

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation classique et hydrodistillation à l'aide d'un appareil de Clevenger. Les résultats ont démontré que l'hydrodistillation de type Clevenger était hautement efficace, offrant un rendement d'extraction substantiel dans un temps d'extraction optimisé. Le criblage phytochimique a révélé la présence de tanins et d'alcaloïdes chez les deux espèces, tandis que les flavonoïdes, les saponines, les anthocyanes, les coumarines, l'amidon et les composés réducteurs étaient absents.

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée à l'aide du test de piégeage des radicaux libres DPPH. Les résultats ont montré que l'activité antioxydante augmentait de manière dépendante de la concentration. L'huile essentielle d'*Illicium verum* a présenté une activité antioxydante légèrement supérieure à celle de *Pimpinella anisum L.*. Notamment, le mélange des deux huiles essentielles a donné les meilleurs résultats, démontrant un pourcentage d'inhibition plus élevé et une valeur d'IC50 plus faible, ce qui indique un effet synergique entre les constituants des deux huiles.

En conclusion, les huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum* représentent des sources naturelles prometteuses de composés antioxydants. De plus, leur combinaison améliore significativement l'activité antioxydante, offrant des perspectives prometteuses pour leur application dans les secteurs pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Mots-clés : *Pimpinella anisum L.*, *Illicium verum*, huiles essentielles, criblage phytochimique, activité antioxydante.

ملخص

تعد الزيوت الأساسية مواد طبيعية غنية بالمركبات النشطة بيولوجيًا، وتُستخدم على نطاق واسع في الصناعات الدوائية والغذائية والتجميلية نظرًا لخصائصها البيولوجية المتعددة. هدفت هذه الدراسة إلى مقارنة الزيوت الأساسية لنباتي اليانسون *Pimpinella anisum L.* واليانسون النجمي *Illicium verum* ، من خلال تقييم عائد الاستخلاص، والتركيب الفيتوكيميائي، والنشاط المضاد للأكسدة، بالإضافة إلى تقصي تأثير صياغتهما معًا كخليط.

تّم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير المائي الكلاسيكي والتقطير المائي باستخدام جهاز كليفنجر .وأظهرت النتائج أن التقطير المائي بطريقة كليفنجر كان عالي الكفاءة، حيث وفر عائد استخلاص وفيرًا في وقت استخلاص مثالي. كما كشف الفحص الفيتوكيميائي عن وجود العفصيات والقلويدات في كلا النوعين، في حين غابت الفلافونيدات، السابونينات، الأنثوسيانينات، الكومارينات، النشاء، والمركبات المختزلة.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية باستخدام اختبار تثبيط الجذور الحرة .DPPH وأظهرت النتائج أن النشاط المضاد للأكسدة يزداد طرديًا مع زيادة التركيز. وقد أظهر الزيت الأساسي لليانسون النجمي *Illicium verum* نشاطًا مضادًا للأكسدة أعلى قليلًا من زيت اليانسون ..*L Pimpinella anisum* والجدير بالذكر أن خليط الزيتين الأساسيين
حقق أفضل النتائج، مسجلًا نسبة تثبيط أعلى وقيمة IC_{50} أقل، مما يشير إلى وجود تأثير تآزري بين مكونات كلا الزيتين.

في الختام، تمثل الزيوت الأساسية لـ *Pimpinella anisum L.* و *Illicium verum* مصادر طبيعية واعدة للمركبات المضادة للأكسدة. علاوة على ذلك، فإن مزجهما يعزز النشاط المضاد للأكسدة بشكل كبير، مما يفتح آفاقًا واعدة لتطبيقاتهما في قطاعات الصناعات الدوائية، الغذائية، والتجميلية.

الكلمات المفتاحية: *Pimpinella anisum L.*، *Illicium verum*، الزيوت الأساسية، الفحص الفيتوكيميائي، النشاط المضاد للأكسدة.

Abstract

Essential oils are natural substances rich in bioactive compounds and are widely used in the pharmaceutical, food, and cosmetic industries due to their numerous biological properties. This study aimed to compare the essential oils of *Pimpinella anisum L.* and *Illicium verum*, evaluating their extraction yield, phytochemical composition, and antioxidant activity, as well as investigating the effect of their formulation as a mixture.

The essential oils were obtained by classic hydrodistillation and hydrodistillation using a Clevenger apparatus. The results demonstrated that the Clevenger-type hydrodistillation was highly efficient, providing a substantial extraction yield within an optimized extraction time. Phytochemical screening revealed the presence of tannins and alkaloids in both species, whereas flavonoids, saponins, anthocyanins, coumarins, starch, and reducing compounds were absent.

The antioxidant activity of the essential oils was evaluated using the DPPH radical scavenging assay. The results showed that antioxidant activity increased in a concentration-dependent manner. The essential oil of *Illicium verum* exhibited slightly higher antioxidant activity than that of *Pimpinella anisum L.*. Notably, the mixture of the two essential oils yielded the best results, demonstrating a higher inhibition percentage and a lower IC_{50} value, which indicates a synergistic effect between the constituents of both oils.

In conclusion, the essential oils of *Pimpinella anisum L.* and *Illicium verum* represent promising natural sources of antioxidant compounds. Furthermore, their combination significantly enhances antioxidant activity, offering promising prospects for their application across the pharmaceutical, food, and cosmetic sectors.

Keywords: *Pimpinella anisum L.*, *Illicium verum*, essential oils, phytochemical screening, antioxidant activity.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction générale 1

Chapitre I : Huiles essentielles : principes généraux et caractéristiques

I.1. Introduction 3

II. Définition des huiles essentielles 3

III. Sites de stockage des huiles essentielles dans la plante 3

IV. Procédés d'extraction des huiles essentielles 4

IV.1. L'hydrodistillation 4

IV.2. L'entraînement à la vapeur d'eau 5

IV.3. L'expression à froid 5

IV.4. L'extraction par solvants organiques 5

IV.5. Extraction assistée par micro-ondes 5

IV.6. Extraction par fluide supercritique (CO_2-SC) 6

IV.7. Extraction assistée par ultrasons 6

V. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles 6

V.1. Aspect, couleur et odeur 6

V.2. Volatilité et solubilité 6

V.3. Densité et pouvoir rotatoire 7

V.4. Indice de réfraction 7

VI. Les compositions chimiques des huiles essentielles 7

VI.1. Les terpènes 7

VI.1.1. Les monoterpènes 8

VI.1.2. Les sesquiterpènes 8

VI.2. Les phénylpropanoïdes 8

VI.3. Composés d'origines diverses 9

VII. Notion de chémotype 9

VIII. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles 9
VIII.1. Les Méthodes Chromatographiques 10
VIII.1.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse 10
VIII.1.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse avec Détecteur à Ionisation de Flamme 10
VIII.1.3. La Chromatographie sur Couche Mince 10
VIII.2. Les Méthodes Spectroscopiques 10
VIII.3. Les Indices Physico-chimiques 11
VIII.4. Les Analyses Chimiques Classiques 11
IX. Propriétés biologiques des huiles essentielles 11
IX.1. Activité antimicrobienne 12
IX.2. Activité antioxydante 12
IX.3. Activité anti-inflammatoire 12
IX.4. Activité antifongique 13
X. Applications des huiles essentielles 13
X.1. Applications dans l'industrie pharmaceutique et thérapeutique 13
X.2. Applications dans l'industrie agroalimentaire 13
X.3. Applications en cosmétique et parfumerie 14
X.4. Applications dans l'industrie chimique 14
XI. Evaluation de l'activité antiaxydante des huiles essentielles 14
XI.1. Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) 14
XI.2. Le test à l'ABTS (Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) 15
XI.3. Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) 15
XI.4. Le test de décoloration du β-carotène / acide linoléique 15
XI. Conclusion 15
Chapitre II : Étude monographique de *Pimpinella anisum L.* et *Illicium verum*
I. Introduction 17

II. Etude botanique et monographique des plantes d'étude.....17
II.1. *Pimpinella anisum L* 17
II.1.1. Classification taxonomique..... 18
II.1.2. Noms vernaculaires 18
II.1.3. Origine et répartition géographique 18
II.1.4. Description botanique..... 19
II.1.5. Étude phytochimique de *Pimpinella anisum L*..... 20
II.1.5.1. Composition des graines..... 20
II.1.5.2. Composition chimique de l'huile essentielle..... 20
II.1.6. Domaine d'utilisation..... 21
II.2. *Illicium verum*..... 22
II.2.1. Classification taxonomique..... 22
II.2.2. Origine et répartition géographique 23
II.2.3. Description botanique..... 23
II.2.4. Étude phytochimique d'*Illicium verum*..... 24
II.2.4.1. Composition des graines..... 24
II.2.4.2. Composition chimique de l'huile essentiel 24
II.2.5. Utilisation thérapeutique traditionnelle 25
III. Conclusion..... 25

Chapitre III : Matériels et méthodes.

III.1. Objectif du travail 26
III.2. Matériel et produits..... 26
III.2.1. Appareillage.....26
III.2.2. Verreries 27
III.2.3. Produits chimiques.....27
III.3. Matériel végétal 27
III.3.1. Choix des plantes utilisée.....28
III.3.2. Origine et collecte du matériel végétal..... 28
III.3.3. Préparation du matériel végétal 29
III.4. Extraction des huiles essentielles.....30

III.4.1. Extraction par hydrodistillation 30
III.4.2. Extraction par dispositif de Clevenger 31
III.4.3. Détermination du rendement en huile essentielle 33
III.4.3. Caractérisations organoleptiques des huiles essentielles 33
III.5. Criblage phytochimique 33
III.5.1. Préparation de l'extrait éthanolique par macération 34
III.5.1.1. Recherche des tanins 34
III.5.1.2. Recherche des flavonoïdes 35
III.5.1.3. Recherche des composés réducteurs 35
III.5.2. Préparation de l'extrait sulfurique par macération 36
III.5.2.1. Recherche des alcaloïdes 36
III.5.3. Préparation de l'extrait aqueux par décoction 37
III.5.3.1. Recherche des saponosides 37
III.5.3.2. Recherche de l'amidon 38
III.5.3.3. Recherche des Anthocyanes 38
III.5.3.4. Recherche des coumarines 39
III.6. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles 39
III.6.1. Principe 39
III.6.2. Mode opératoire 40
III.7. Conlusion 42

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Introduction 43
IV.2. Analyse et comparaison des rendements d'extraction 43
IV.3. Caractérisations organoleptiques des huiles essentielles 44
IV.4. Résultats du criblage phytochimique 45
IV.5. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles 48
IV.6. Conclusion 44

Conclusion générale 52

Liste des tableaux

Tableau I.1. Répartition des huiles essentielles selon l'organe végétal et la famille botanique 4

Tableau II.1. Classification taxonomique de *Pimpinella anisum L.*..... 18

Tableau II.2. Composition chimique de l'huile essentielle des graines de *Pimpinella anisum L* 20

Tableau II.3. Classification taxonomique d'*Illicium verum*..... 22

Tableau II.4. Composition chimique de l'huile essentielle des graines d'*Illicium verum*... 23

Tableau IV.1. Rendements d'extraction des huiles essentielles de *Pimpinella anisum* et d'*Illicium* verum 43

Tableau IV.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Pimpinella Anisum L.* et d'*Illicium verum* 44

Tableau IV.3. Résultats du criblage phytochimique des extraits de *Pimpinella anisum* et d'*Illicium verum*..... 46

Liste des figures

Figure 1.1. Structures chimiques de quelques monoterpènes d'huiles essentielles 8

Figure I.2. Structures chimiques de quelques sesquiterpènes d'huiles essentielles 8

Figure I.3. Structures chimiques de quelques phénylpropanoïdes 9

Figure II.1. Fleures et graines de *Pimpinella anisum L*..... 17

Figure II.2. Représentation morphologique de *Pimpinella anisum L*..... 19

Figure II.3. Structure chimique de (*E*)-anéthole 21

Figure II.4. Fruits d'*Illicium verum* à différentes stades de maturité..... 22

Figure II.4. Planche botanique historique d'*Illicium verum*..... 23

Figure III.1. Graines de *Pimpinella anisum*..... 28

Figure III.2. Graines d'*Illicium verum*..... 28

Figure III.3. Préparation de la poudre d'*Illicium verum*..... 29

Figure III.4. Poudre de *Pimpinella anisum*..... 29

Figure III.5. Montage d'hydrodistillation..... 31

Figure III.6. Séparation de l'huile essentielle et de l'hydrolat..... 31

Figure III.7. Montage de distillation par dispositif de Clevenger..... 32

Figure III.8. Extraction d'huile essentielle 33

Figure III.9. Préparation de l'extrait éthanolique 34

Figure IV.10. Extrait sulfurique obtenu au laboratoire..... 36

Figure III.11. Extrait aqueux obtenu au laboratoire 37

Figure III.12. Réaction de réduction du radicale libre DPPH˙ par un antioxydant A-H..... 40

Figure III.13. Préparation des échantillons..... 41

Figure III.14. Spectrophotomètre utilisé pour la mesure des absorbances..... 41

Figure IV.1. Huile essentielle de *Pimpinella anisum*..... 45

Figure IV.2. Huile essentielle d'*Illicium verum* 45

Figure IV.3. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH˙ par les huiles essentielles, leur mélange et le témoin positif 48

Figure IV.4. Comparaison des concentrations inhibitrice à 50% du radical DPPH˙ des différentes huiles essentielles, de leur mélange et du témoin 50

Liste des abréviations

ABTS	2,2'- Azinobis -3-éthyl-Benzo-Thiazoline-6-Sulfonate
ADN	Acide désoxyribonucléique
CO_2-SC	Dioxyde de carbone supercritique
CPG-SM	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de Masse
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant Power (Capacité réductrice ferrique d'antioxydants)
g	Gramme
g/cm^3	Gramme par centimètre cube
h	Heure
IC_{50}	Concentration inhibitrice à 50%
ISO	International Organisation for Standardization (Organisation international de normalisation)
L	Litre
ml	Millilitre
mg	Milligramme
min	Minute
M	Molaire
N	Normalité
nm	Nanomètre
ORAC	Oxygen Radical Absorbance Capacity (Capacité d'absorption des radicaux oxygénés)
pH	Potentiel hydrogène
PI (%)	Porcentage d'inhibition
UV	Ultraviolet
µg	Microgramme
µg/ml	Microgramme par millilitre
µL	Microlitre
%	Pourcentage
°C	Degré Celsius

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales et aromatiques occupent une place prépondérante dans la pharmacopée traditionnelle et l'alimentation humaine. Face aux exigences contemporaines de la pharmacologie, de la cosmétique et de l'agroalimentaire, l'exploration de la biodiversité végétale s'est intensifiée, notamment pour la recherche de molécules bioactives alternatives aux produits de synthèse, souvent critiqués pour leurs effets secondaires potentiels **[1]**.

Parmi ces métabolites secondaires, les huiles essentielles suscitent un intérêt scientifique grandissant en raison de la complexité de leur composition chimique et de la diversité de leurs propriétés biologiques, telles que les activités antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes **[2]**.

Le stress oxydatif, induit par une production excessive de radicaux libres dans l'organisme, est impliqué dans le développement de nombreuses pathologies chroniques et dégénératives. L'évaluation du potentiel antioxydant des extraits naturels est donc devenue un axe de recherche majeur. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, qui porte sur la valorisation phytochimique et biologique de deux matrices végétales d'intérêt majeur de la famille des Apiaceae et des Schisandraceae : l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et la badiane (*Illicium verum*). Reconnues pour leur richesse en composés volatils, notamment en trans-anethole, ces deux plantes partagent des similitudes aromatiques remarquables malgré des origines botaniques distinctes.

L'objectif principal de ce travail est de mener une étude comparative rigoureuse entre les huiles essentielles de ces deux matrices, en évaluant leur rendement d'extraction, leur profil phytochimique et leur capacité à piéger les radicaux libres, afin de mieux cerner leur efficacité respective et leurs applications potentielles.

Pour mener à bien notre propos, ce mémoire de master est structuré en quatre chapitres principaux :

- Le premier chapitre est consacré à une revue bibliographique générale sur les huiles essentielles, définissant leurs structures chimiques, leurs méthodes d'identification et leurs applications.
- Le deuxième chapitre présente une description botanique, et phytochimique détaillée des deux matrices végétales étudiées : *Pimpinella anisum L.* et *Illicium verum*.

- Le troisième chapitre expose le protocole expérimental, décrivant le matériel et les méthodes mis en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles, le criblage phytochimique, ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage du radical libre DPPH.
- Le quatrième chapitre est dédié à la présentation, l'interprétation et la discussion des résultats obtenus, complétées par une étude comparative approfondie entre les deux essences.

Enfin, nous clôturerons ce mémoire par une conclusion générale qui synthétisera les principaux apports de notre recherche.

CHAPITRE I

Huiles essentielles : principes Généraux et caractéristiques

I. Introduction

Depuis l'Antiquité, l'Homme a toujours utilisé les plantes médicinales pour se soigner. Aujourd'hui, cette pratique, appelée la phytothérapie, connaît un grand regain d'intérêt dans le monde scientifique. En effet, face à des problèmes médicaux majeurs comme la résistance des bactéries aux antibiotiques, les chercheurs se tournent de plus en plus vers les remèdes naturels pour trouver de nouvelles molécules actives. Parmi les différents extraits végétaux utilisés en phytothérapie, les huiles essentielles occupent une place très importante grâce à leur efficacité.

Ce chapitre a pour objectif de présenter les généralités sur les huiles essentielles et de mettre en évidence leurs principaux intérêts biologiques

II. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des extraits liquides, volatils, concentrés et aromatiques, obtenus à partir de matières premières végétales. Bien que qualifiées d'huiles, elles ne contiennent aucun corps gras, contrairement aux huiles végétales fixes comme l'huile d'olive ou d'amande douce. Il s'agit de mélanges complexes de molécules organiques lipophiles appartenant principalement aux familles des terpènes et des phénylpropanoïdes **[3]**.

Ces essences possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment des activités antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires **[1]**. Cependant, à cause de leur forte concentration en principes actifs, leur utilisation en médecine exige une bonne connaissance de leur composition chimique afin d'éviter les risques de toxicité.

III. Sites de stockage des huiles essentielles dans la plante

Les huiles essentielles ne présentent pas une répartition homogène dans les tissus végétaux, elles sont sécrétrices microscopiques dédiées. Ces formations anatomiques varient de façon caractéristique selon la famille de la plante

- **À l'extérieur :** dans des poils sécréteurs (trichomes) à la surface des feuilles ou des fleurs, typiques de la menthe ou de la lavande **[4]**.
- **À l'intérieur :** dans des poches ou des canaux fermés pour éviter d'intoxiquer la plante elle-même. On les retrouve dans le zeste des agrumes, les feuilles d'eucalyptus ou encore les graines d'anis **[5]**.

Une même plante peut contenir des huiles essentielles dans différents organes, parfois avec des compositions chimiques distinctes. Le tableau suivant résume la localisation principale des huiles essentielles selon les grandes familles botaniques :

Tableau I.1. Répartition des huiles essentielles selon l'organe végétal et la famille botanique.

Organe végétal	Exemples de plantes	Famille botanique
Feuilles / tiges	Menthe, Thym, Lavande	Lamiaceae
Feuilles	Eucalyptus	Myrtaceae
Zeste (Péricarpe)	Orange, citron, Bergamote	Rutaceae
Fruits /graines	Anis, Fenouil, Coriandre	Apiaceae
Fleurs / Boutons	Clou de girofle	Myrtaceae
Ecorce / Bois	Cannelle, Santal	Lauraceae / Santalaceae
Racines / Rhizomes	Gingembre, Vétiver	Zingiberaceae / Poaceae

IV. Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est une étape importante qui permet d'isoler les composés aromatiques des plantes tout en préservant leur qualité. Le choix de la méthode d'extraction est une étape déterminante, car il influence directement le rendement, la composition chimique et la qualité organoleptique de l'extrait final **[3]**. Plusieurs techniques d'extraction sont utilisées, notamment :

IV.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus ancienne et la plus largement utilisée à l'échelle de laboratoire et industrielle. Elle consiste à immerger complètement la biomasse végétale dans de l'eau au sein d'un alambic, puis à porter l'ensemble à ébullition **[6]**. La chaleur rompt les parois des structures sécrétrices, libérant ainsi les molécules volatiles. Celles-ci forment un mélange azéotropique avec la vapeur d'eau. Après condensation dans un réfrigérant, le distillat est récupéré dans un essencier où l'huile essentielle se sépare de la phase aqueuse par différence de densité **[7]**.

Toutefois, ce procédé présente des limites majeures : le contact direct et prolongé avec l'eau bouillante peut provoquer des réactions d'hydrolyse, d'isomérisation ou de dégradation thermique de certains composés thermosensibles **[6]**.

IV.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

Contrairement à l'hydrodistillation, la matière végétale n'est pas en contact direct avec l'eau. Elle est disposée sur une grille perforée située au-dessus de la source d'eau bouillante ou traversée par un flux de vapeur sèche généré par une chaudière externe **[3, 8]**. Cette méthode limite les phénomènes d'hydrolyse et permet une extraction souvent plus rapide, ce qui en fait le procédé industriel de choix pour les feuilles et les écorces.

IV.3. L'expression à froid

Cette méthode mécanique est exclusivement réservée aux fruits du genre Citrus (agrumes), dont les huiles essentielles sont localisées dans les poches schizogènes du péricarpe (zeste) **[6]**. Le procédé consiste à rompre mécaniquement ces poches par râpage ou pressage à température ambiante, évitant ainsi toute altération thermique. L'émulsion obtenue est ensuite centrifugée pour séparer l'essence de la phase aqueuse **[8]**.

IV.4. L'extraction par solvants organiques

Pour les matrices végétales fragiles telles que les fleurs qui ne supportent pas la chaleur de la distillation, l'utilisation de solvants organiques est privilégiée. Le solvant dissout les composés volatils ainsi que des cires et des pigments. Après évaporation du solvant, on obtient une pâte semi-solide appelée concrète, qui est ensuite lavée à l'alcool pour isoler l'absolue **[7, 9]**. L'inconvénient majeur réside dans la présence potentielle de traces de solvants toxiques dans le produit final.

IV.5. Extraction assistée par micro-ondes :

Les micro-ondes chauffent sélectivement l'eau in situ contenue dans les cellules végétales. L'augmentation rapide de la pression interne fait éclater les cellules, libérant l'huile essentielle en quelques minutes seulement **[3, 10]**.

IV.6. Extraction par fluide supercritique (CO_2-SC)

Le dioxyde de carbone CO_2 est utilisé à l'état supercritique au-delà de 31,1 °C et 73,8 bar, où il acquiert des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide. C'est un solvant d'extraction hautement sélectif, non toxique et facilement éliminé par simple dépressurisation, préservant l'intégrité totale des molécules odorantes **[9]**.

IV.7. Extraction assistée par ultrasons

Cette méthode récente permet une extraction rapide avec un rendement élevé. Les ultrasons provoquent la rupture des parois cellulaires, ce qui facilite la libération des composés aromatiques dans le solvant. Celui-ci est ensuite éliminé par évaporation, suivie d'un séchage, généralement par lyophilisation **[10]**.

V. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Les propriétés physiques sont importantes pour vérifier leur pureté et évaluer leur qualité.

V.1. Aspect, couleur et odeur

En général, les huiles essentielles sont liquides et fluides à température ambiante **[2]**. Cependant, certaines peuvent devenir visqueuses avec le temps à cause de l'oxydation **[3]**. Leur couleur dépend de la plante et de la méthode d'extraction : elles peuvent être incolores, jaunes, vertes ou même bleues, comme l'huile de camomille. Elles ont toutes une odeur forte et caractéristique de la plante d'origine.

V.2. Volatilité et solubilité

Les huiles essentielles sont très volatiles car elles contiennent des molécules légères comme les monoterpènes et les sesquiterpènes **[1]**. Contrairement aux huiles végétales, elles s'évaporent complètement sans laisser de tache grasse sur le papier.

Sur le plan de la solubilité, elles sont hydrophobes (insolubles dans l'eau) et lipophiles. Elles se dissolvent très bien dans les solvants organiques, les huiles végétales et l'alcool concentré **[2]**.

V.3. Densité et pouvoir rotatoire

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau à 20°C, souvent comprise entre 0,800 et 0,990 g/cm³ **[2]**. C'est pourquoi elles surnagent au-dessus de l'eau après la distillation. Seules quelques huiles lourdes, comme celle de clou de girofle, coulent car leur densité est supérieure à 1.

De plus, les huiles essentielles possèdent un pouvoir rotatoire car elles contiennent des molécules chirales. Mesurer cette déviation de la lumière permet de vérifier si l'huile est pure ou si elle a été falsifiée **[11]**.

V.4. Indice de réfraction

L'indice de réfraction correspond au rapport entre la vitesse de la lumière dans le vide et sa vitesse dans l'huile essentielle. Pour la majorité des huiles, cet indice varie entre 1,450 et 1,510 **[3]**. Cette valeur change selon les liaisons chimiques des molécules présentes. Si l'indice mesuré s'éloigne des normes ISO, cela indique que l'huile est altérée ou falsifiée **[11]**.

VI. Les compositions chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de substances chimiques volatiles. Leur composition est variable selon l'espèce végétale et peut comprendre plusieurs centaines de molécules déjà identifiées, tandis que d'autres restent encore inconnues. Ces constituants appartiennent principalement à deux grandes familles issues de voies biosynthèse différentes : les terpénoides majoritaire, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane, présents en moindre proportion **[12]**. Certaines huiles essentielles peuvent également contenir des composés issus de la dégradation de molécules non volatiles lors du processus d'extraction.

VI.1. Les terpènes

Les terpènes représentent une classe très répandue dans le règne végétale. Leur structure est basée sur l'unité isoprénique C_5H_8. Selon le nombre d'unités d'isoprène, on distingue plusieurs catégories, dont les principales présentes dans les huiles essentielles sont les monoterpènes $C_{10}H_{16}$, constitués de deux unités isopréniques, et les sesquiterpènes $C_{15}H_{24}$, formés de trois unités. Seuls les terpènes de faible masse moléculaire, notamment les mono- et sesquiterpènes, sont retrouvés dans les huiles essentielles en raison de leur volatilité et de leurs propriétés aromatiques **[12]**.

VI.1.1. Les monoterpènes

Sont les composés les plus simples et les plus abondants dans les huiles essentielles, pouvant représenter jusqu'à 90% de leur composition. Ils résultent de l'assemblage de deux unités isopréniques selon une organisation de type « tête-queue ». Leur structure peut être acyclique, monocyclique ou bicyclique, et ils peuvent également donner naissance à divers dérivés fonctionnels. Par exemple : Limonène, α-Pinène, β-Pinène.

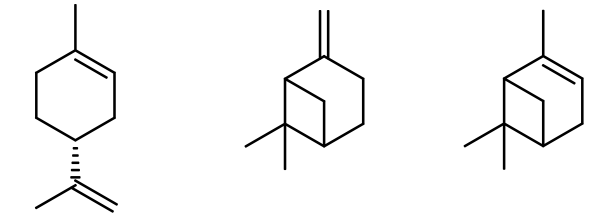


Figure I.1. Structures chimiques de quelques monoterpènes d'huiles essentielles.

VI.1.2. Les sesquiterpènes

Les sesquiterpènes sont des molécules constituées de 15 atomes de carbone issues de trois unités isopréniques. Ils présentent une grande diversité structures incluant des formes acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques ou polycycliques. Ils peuvent exister sous forme d'hydrocarbures simples ou dérivés oxygénés tels que les alcools, cétones, aldéhydes, acides ou lactones. Par exemple :

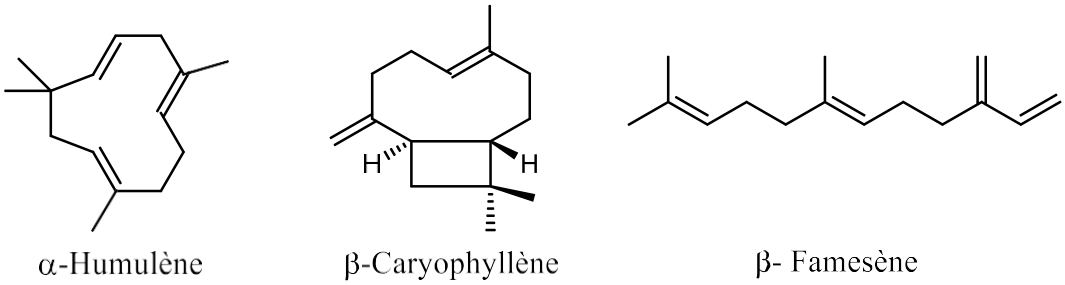
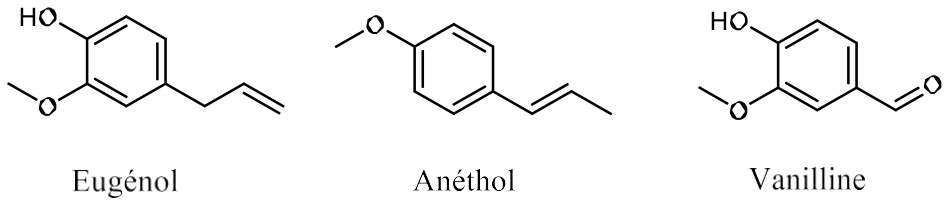


Figure I.2. Structures chimiques de quelques sesquiterpènes d'huiles essentielles.

VI.2. Les phénylpropanoïdes

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane constituent une autre famille importante de substances volatiles présentes dans les huiles essentielles. Parmi les plus connus figurent la vanilline, l'eugénol, l'anéthole et l'estragol. Ces molécules sont particulièrement

présentes dans certaines plantes telles que le persil, l'anis, le fenouil, le girofle, la vanille, la cannelle, le basilic et l'estragon.



Eugénol Anéthol Vanilline

Figure I.3. Structures chimiques de quelques phénylpropanoïdes.

VI.3. Composés d'origines diverses

Les huiles essentielles peuvent contenir des composés issus de transformations chimiques de substances non volatiles au cours de la distillation à la vapeur d'eau. Ces composés résultent notamment de la dégradation des acides gras ou des terpènes. De plus, on peut parfois retrouver des composés azotés ou soufrés, ainsi que des fractions plus lourdes pouvant être extraites par solvants.

VII. Notion de chémotype

Le chémotype correspond au profil chimique domaine d'une huile essentielle, défini par le composé majoritaire qui la caractérise. Cette notion permet de distinguer des huiles essentielles issues d'une même espèce végétale mais présentant des compositions chimiques différentes. Elle est essentielle pour garantir une utilisation appropriée, car les variations de chémotype influencent directement les propriétés biologiques ainsi que la toxicité potentielle des huiles essentielles **[13]**.

VIII. Méthodes d'identification chimiques des huiles essentielles

L'identification chimique des huiles essentielles est cruciale pour garantir leur pureté, leur qualité, et détecter d'éventuelles adultérations. Comme les huiles essentielles sont des mélanges complexes de dizaines de molécules volatiles (terpènes, composés phénoliques, aldéhydes, etc.), leur analyse repose sur une combinaison de méthodes physiques, chimiques et surtout chromatographiques.

Voici les principales méthodes utilisées en laboratoire pour identifier les composants des huiles essentielles :

VIII.1. Les Méthodes Chromatographiques

Ce sont les méthodes de référence, car elles permettent de séparer physiquement tous les constituants du mélange avant de les identifier.

VIII.1.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse

C'est la technique de référence pour l'identification formelle des constituants volatils. L'utilisation conjointe des spectres de masse et des indices de rétention linéaires permet de discriminer les isomères de structure **[14]**.

VIII.1.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse avec Détecteur à Ionisation de Flamme

Cette méthode est principalement utilisée pour la quantification. Les composés séparés passent dans une flamme hydrogène/air, ce qui produit des ions. Le signal électrique mesuré est proportionnel à la quantité de matière.

Elle permet d'obtenir le pourcentage exact de chaque constituant dans l'huile essentielle **[15]**.

VIII.1.3. La Chromatographie sur Couche Mince

Une méthode rapide, visuelle et économique, souvent utilisée en screening préliminaire ou en contrôle qualité rapide. On dépose une goutte d'huile sur une plaque de silice que l'on plonge dans un solvant. Les constituants migrent à des hauteurs différentes.

Après migration, la plaque est révélée sous lampe UV ou par pulvérisation d'un réactif chimique comme la vanilline sulfurique qui colore les différentes familles de composés terpènes, esters, …etc **[16]**.

VIII.2. Les Méthodes Spectroscopiques

Contrairement à la chromatographie, ces méthodes n'isolent pas les molécules mais donnent une image globale des fonctions chimiques présentes.

- **La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier**

On soumet l'échantillon à un rayonnement infrarouge. Les liaisons chimiques (C=O, O-H, C-H, …etc.) absorbent l'énergie à des longueurs d'onde spécifiques en vibrant.

Très utile pour vérifier rapidement la conformité d'une huile ou détecter la présence de solvants ou d'eau **[17]**.

VIII.3. Les Indices Physico-chimiques

Ces mesures ne permettent pas d'identifier chaque molécule individuelle, mais elles définissent la carte d'identité physique de l'huile essentielle. Une déviation de ces valeurs signale souvent une mauvaise qualité ou une falsification.

- **La Densité relative :** Mesurée à l'aide d'un densimètre ou d'un pycnomètre à 20°C.
- **L'Indice de réfraction :** Mesuré avec un réfractomètre d'Abbe, il caractérise la façon dont l'huile dévie la lumière.
- **Le Pouvoir rotatoire** : Mesuré au polarimètre, il exploite la chiralité des molécules naturelles.
- **La Solubilité dans l'éthanol :** Permet de vérifier la concentration en alcool requise pour solubiliser parfaitement l'huile.

VIII.4. Les Analyses Chimiques Classiques

Aujourd'hui plus rares car gourmandes en temps et en échantillons, elles restent utiles pour caractériser globalement certaines fonctions chimiques par titrage :

- **L'indice d'acide :** Pour évaluer la quantité d'acides gras libres, signe d'altération ou d'oxydation.
- **L'indice d'ester :** Pour évaluer la richesse en esters, composés très odorants comme l'acétate de linalyle.
- **L'indice de saponification :** Lié à la longueur des chaînes carbonées des esters présents.

IX. Propriétés biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles représentent des mélanges naturels complexes de substances volatiles biosynthétisées par les plantes aromatiques. La diversité de leur composition chimique leur confère de nombreuses activités biologiques, qui résultent généralement de l'action synergique entre les différents constituants de l'huile essentielle, plutôt que de l'effet d'un seul composé **[18]**.

IX.1. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne est l'une des propriétés les plus importantes des huiles essentielles. De nombreuses études ont démontré leur efficacité contre un large éventail de microorganismes. Leur action repose principalement sur la perturbation de l'intégrité de la membrane cellulaire des microorganismes, entraînant une augmentation de sa perméabilité, une fuite des constituants intracellulaires et, à terme, la destruction de la cellule microbienne.

Les composés phénoliques, tels que le thymol, le carvacrol et l'eugénol, figurent parmi les molécules les plus actives. En raison de leur efficacité contre plusieurs microorganismes pathogènes, les huiles essentielles sont envisagées comme des alternatives naturelles aux conservateurs chimiques et aux agents antimicrobiens conventionnels **[19]**.

IX.2. Activité antioxydante

Les huiles essentielles possèdent une capacité significative à limiter les phénomènes d'oxydation grâce à leur pouvoir de neutralisation des radicaux libres. Cette propriété est principalement attribuée aux composés phénoliques capables de céder un électron ou un atome d'hydrogène afin de stabiliser les espèces réactives de l'oxygène.

L'activité antioxydante est généralement évaluée à l'aide de méthodes analytiques telles que les essais DPPH, ABTS, FRAP et ORAC. Cette propriété contribue à la prévention du stress oxydatif, impliqué dans le développement de nombreuses maladies chroniques, tout en améliorant la stabilité des produits alimentaires sensibles à l'oxydation **[20]**.

IX.3. Activité anti-inflammatoire

Les huiles essentielles présentent également des effets anti-inflammatoires remarquables. Plusieurs de leurs constituants bioactifs sont capables de moduler la réponse inflammatoire en inhibant la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que les prostaglandines, les leucotriènes et diverses cytokines.

Des molécules comme le 1,8-cinéole, le limonène, l'α-pinène et le β-caryophyllène interviennent dans la régulation de différentes voies moléculaires impliquées dans le processus inflammatoire. Ces propriétés expliquent l'utilisation croissante des huiles essentielles dans la prise en charge des affections inflammatoires et douloureuses **[20]**.

IX.4. Activité antifongique

Les huiles essentielles possèdent une activité antifongique efficace contre plusieurs espèces de champignons pathogènes. Leur mécanisme d'action repose principalement sur la modification de la membrane cellulaire fongique, l'inhibition de la biosynthèse de l'ergostérol ainsi que la perturbation du métabolisme cellulaire.

Cette activité constitue un atout majeur pour leur utilisation comme agents naturels de conservation des aliments et comme alternatives aux antifongiques de synthèse **[20]**.

X. Applications des huiles essentielles

Grâce à leurs propriétés, les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines tels que la pharmacie, la parfumerie, la cosmétique, la thérapeutique, ainsi que l'industrie alimentaire.

X.1. Applications dans l'industrie pharmaceutique et thérapeutique

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps pour leurs effets thérapeutiques, notamment grâce à leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Elles sont employées pour le traitement de certaines infections, en particulier les infections respiratoires, comme c'est le cas des essences d'eucalyptus.

Elles peuvent être administrées par différentes voies telles que les massages, les inhalations, la vaporisation ou les bains. Leurs utilisations s'étendent également à la désinfection de l'air dans les établissements de soins et les habitations.

Par ailleurs, elles peuvent être intégrées dans certaines formulations pharmaceutiques afin de masquer le goût désagréable des médicaments et améliorer leur acceptabilité **[21]**.

X.2. Applications dans l'industrie agroalimentaire

Dans le domaine alimentaire, les huiles essentielles jouent un rôle important dans l'aromatisation des produits. Elles sont responsables de la flaveur caractéristique de nombreux condiment comme le poivre et le gingembre, ainsi que des plantes aromatiques telles que ma menthe, l'anis, le thym, le laurier et l'orange.

À faibles doses, certaines huiles essentielles peuvent également faciliter la digestion, ce qui explique leur utilisation dans la fabrication de boissons et de produits de liquoristerie, comme l'essence d'anis ou badiane.

Elles sont aussi largement utilisées dans la formulation des arômes alimentaires présents dans les plats préparés et les aliments industriels **[21]**.

X.3. Applications en cosmétique et parfumerie

Les huiles essentielles constituent des matières premières essentielles dans l'industrie de la parfumerie en raison de leur richesse aromatique. Elles sont utilisées pour la fabrication de parfums à partir d'essences comme la rose, le jasmin, le citron.

Dans le domaine de la cosmétique, plusieurs huiles essentielles possèdent des propriétés intéressantes. Par exemple, le basilic et le romarin ont des effets tonifiants, le thym et le romarin présentent des propriétés antipelliculaires, tandis que la rose et la lavande favorisent la régénération des cellules cutanées.

Actuellement, les produits naturels sont privilégiés dans ce domaine, bien qu'il soit important de rappeler que naturel ne signifie pas toujours absence de toxicité.

X.4. Applications dans l'industrie chimique

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes à partir desquels il est possible d'isoler des molécules d'intérêt. Ces composés peuvent être utilisés directement où servir de base pour des réactions d'hémisynthèse afin d'obtenir de nouvelles molécules à intérêt économique ou industriel. Cette approche constitue souvent une alternative plus rentable que la synthèse chimique classique, qui nécessite plusieurs étapes et peut présenter des rendements plus faibles.

XI. Evaluation de l'activité antiaxydante des huiles essentielles

L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles repose sur plusieurs mécanismes complémentaires : piégeage des radicaux libres, pouvoir réducteur, ou inhibition de la peroxydation lipidique. Comme les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules hydrophobes et volatiles, certaines méthodes sont plus adaptées que d'autres.

Voici les méthodes principales les plus utilisées en laboratoire :

XI.1. Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)

C'est la méthode la plus populaire et la plus simple. Le DPPH$^{\bullet}$ est un radical libre stable de couleur violette. En présence d'un antioxydant, le radical est réduit et la solution vire au

jaune. Le changement est mesuré par spectrophotométrie à 517 nm **[22]**. Ce test est rapide, peu coûteux et très reproductible.

XI.2. Le test à l'ABTS (Acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))

Semblable au DPPH, ce test mesure la capacité de l'huile essentielle à piéger le radical cation $ABTS^{\bullet+}$, généré au préalable par réaction avec du persulfate de potassium. La décoloration du bleu-vert se mesure à 734 nm **[23]**. Ce test est applicable aux composés à la fois hydrophiles et lipophiles, ce qui est idéal pour les fractions d'huiles essentielles solubilisées dans un solvant adéquat.

XI.3. Le test FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

Contrairement aux tests DPPH et ABTS qui mesurent le transfert d'atomes d'hydrogène, le FRAP mesure le transfert d'électrons. Il évalue la capacité de l'échantillon à réduire le complexe ferrique de la tripyridyltriazine $[Fe(III)\text{-}TPTZ]^{3+}$ en un complexe ferreux intense bleuté $[Fe(II)\text{-}TPTZ]^{2+}$ en milieu acide. La lecture se fait à 593 nm **[24]**. Ce test donne une excellente indication du pouvoir purement réducteur de l'huile.

XI.4. Le test de décoloration du β-carotène / acide linoléique

Cette méthode simule la peroxydation lipidique dans une émulsion. L'oxydation de l'acide linoléique produit des radicaux libres hydroperoxydes qui attaquent les doubles liaisons du β-carotène, entraînant sa décoloration. La présence d'une huile essentielle antioxydante va ralentir ou bloquer cette décoloration et la mesure se fait à 470 nm **[25]**.

Ce test est très représentatif de l'efficacité d'un antioxydant dans un système lipidique ou émulsion.

XII. Conclusion

Les huiles essentielles sont des substances naturelles riches en composés bioactifs, reconnues pour leurs nombreuses propriétés biologiques et leurs diverses applications. Dans ce chapitre, les principales informations sur les huiles essentielles ont été présentées, notamment leur définition, leurs méthodes d'extraction, leurs propriétés physico-chimiques, leur composition chimique, leurs activités biologiques et leurs domaines d'utilisation.

Ces connaissances constituent une base importante pour mieux comprendre les travaux expérimentaux réalisés dans cette étude et interpréter les résultats obtenus.

CHAPITRE II

Etude monographique de Pimpinella anisum L. et d'Illicium verum

I. Introduction

Les plantes aromatiques et médicinales constituent une source majeure de molécules bioactives d'intérêt pharmacologique et thérapeutique. Parmi ces espèces, l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et la badiane (*Illicium verum*) occupent une place prépondérante dans les médecines traditionnelles de diverses régions du monde. La recherche scientifique contemporaine s'intéresse particulièrement à ces matrices en raison de la diversité de leurs métabolites secondaires, notamment leurs huiles essentielles, qui possèdent des propriétés antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires remarquables **[26]**.

L'objectif de ce chapitre est d'exposer une étude comparative et approfondie des caractéristiques botaniques et de la composition phytochimique de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*. De plus, une attention particulière sera accordée à la caractérisation et à la valorisation des propriétés biologiques de leurs huiles essentielles afin de mettre en évidence leur potentiel thérapeutique.

II. Etude botanique et monographique des plantes d'étude

Bien qu'elles partagent des propriétés organoleptiques similaires, *Pimpinella anisum L.* et *Illicium verum* appartiennrnt à des familles botaniques totalement distinctes et possèdesnt des caractéristiques morphologiques et géographiques bien spécifiques.

II.1. *Pimpinella anisum L.*

Pimpenella anisum L., communément appelée anis vert, est une plante aromatique appartenant à la famille des Apiaceae. Elle est cultivée depuis l'antiquité et utilisée pour ses propriétés aromatiques et médicinales. Ses graines et son huile essentielle sont largement employées dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique.



Figure II.1. Fleures et graines de *Pimpinella anisum L.* **[27]**.

II.1.1. Classification taxonomique

La classification systématique de *Pimpinella anisum L.* est présentée dans le **Tableau II.1.** ci-dessous :

Tableau II.1. Classification taxonomique de *Pimpinella anisum L.* **[28]**.

Niveau taxonomique	**Classification**
Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	*Pimpinella*
Espèce	*Pimpinella anisum L.*

II.1.2. Noms vernaculaires

Pimpinella anisum L. est connue sous plusieurs dénominations vernaculaires qui varient selon les régions et les pays. En arabe, cette plante est principalement désignée par les termes « *habbat hlawa* » ou « *yansoun* », tandis qu'en français, elle porte le nom d'« anis vert ». D'un point de vue géographique, les appellations locales divergent également : en an Algérie et au Maroc, elle est communément connue sous le nom de « *habbat hlawa* », alors qu'en Palestine et au Liban elle est appelée « *yansoun* ».

II.1.3. Origine et répartition géographique

L'espèce *Pimpinella anisum L.* est originaire de la région méditerranéenne orientale de l'Asie occidentale, son utilisation par l'Homme est documentée depuis l'Antiquité, notamment au sein de l'Égypte ancienne. Aujourd'hui, cette plante est largement cultivé dans les zones tempérés et semi-arides, en particulier en Afrique du Nord, en Europe du Sud et en Asie.

Par ailleurs, les conditions environnementales peuvent influencer la production des métabolites secondaires ainsi que le rendement en huile essentielle **[29]**.

II.1.4. Description botanique

Pimpinella anisum L. est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle appartenant à la famille des Apiaceae. Pouvant atteindre une hauteur de 50 à 80 cm, elle possède des tiges dressées et creuses, ainsi que des feuilles vertes, alternes, longuement pétiolées et composées de trois folioles **[30]**.

Ses fleurs, de petite taille et de couleur blanches, sont regroupées en ombelles. Ses fruits, communément appelés graines, sont de couleur gris verdâtre et s'avèrent très aromatiques. Les fruits constituent la partie la plus utilisée de la plante en raison de leur richesse en composés bioactifs et en huiles essentielles, majoritairement composé de (*E*)-anéthole **[31]**.

Ces propriétés justifient leur large utilisation dans les préparations traditionnelles et thérapeutiques ; en particulier sous forme d'infusion.

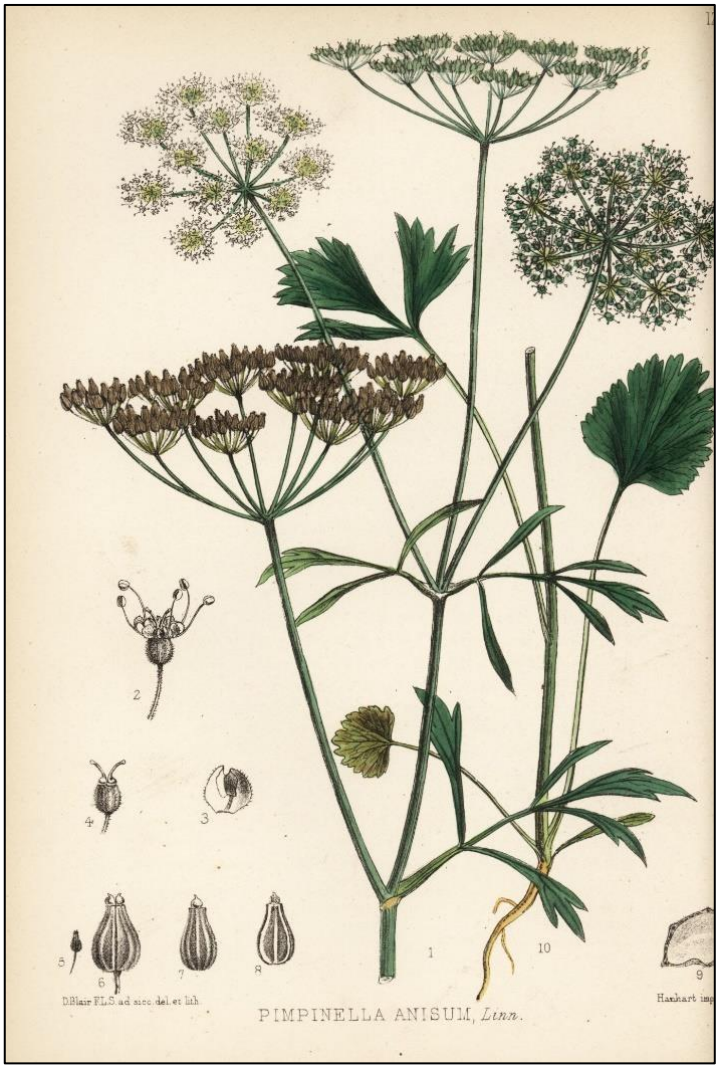


Figure II.2. Représentation morphologique de *Pimpinella anisum L.* **[32]**.

II.1.5. Étude phytochimique de *Pimpinella anisum L.*

II.1.5.1. Composition des graines

Les analyses phytochimiques menées sur les graines de *Pimpinella anisum L.* révèlent une forte teneur en composés bioactifs, notamment en polyphénols, flavonoïdes et tanins **[33,34]**.

De manière générale, la matrice des graines est constituée des fractions suivantes **[35]** :

- **Composés phénoliques et glucides :** Polysaccharides, flavonoïdes, hétérosides de flavones, acides phénols et glucosides de l'acide 4-hydroxybenzoïque.
- **Coumarines :** Furanocoumarines et hydroxycoumarines
- **Lipides :** Une fraction lipidique globale (15-29 %) et une huile fixe (25-30 %)
- **Huile essentielle (1,5-6 %) :** Principalement caractérisée par sa richesse en trans-anéthole

II.1.5.2. Composition chimique de l'huile essentielle

Les huiles essentielles de *Pimpenella anisum L.* contient plusieurs composés actifs, dont principalement le trans-anéthole, l'estragole, le γ-himachaléne, l'anis aldéhyde ainsi que divers terpènes et composés aromatiques.

Les différents constituants volatils de cette huile essentielle sont regroupés par familles chimiques dans le **Tableau II.2.**

Tableau II.2. Composition chimique de l'huile essentielle des graines de *Pimpinella anisum L.* **[36].**

Famille chimique	Composés principaux	Teneur (%)
Hydrocarbures terpéniques	β-bisabolène	1,3
	α-zingibérène	1,5
	γ-hémachalène	9,9
	β-caryophyllène	8 - 23,7
Phénols	Estragole	0,1 - 5
	(*Z*)-anéthole	0,2 - 1,1
	(*E*)-anéthole	75,2 - 96,1
Alcools	Linalol	0 - 2,2
	Alcool anisique	0,2 - 0,4
Aldéhyde	Anisaldéhyde	0,5 - 2,5
Ester	Phényle	1 - 14

Le trans-anéthole est le constituant majeur de l'huile essentielle d'anis vert. Ce composé représente 57,4 % du poids sec des graines et s'élève entre 75,2 % et 96,1 % dans l'huile essentielle extraite **[37]**. Les compositions chimiques de l'huile essentielle peuvent varier selon l'origine géographique de la plante.

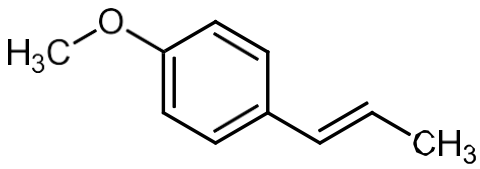


Figure II.3. Structure chimique de (*E*)-anéthole.

II.1.6. Domaine d'utilisation

- **Domaine médical :** Les graines d'anis vert et leur huile essentielle sont utilisées en médecine traditionnelle, pour leurs propriétés diurétiques, sédatives et antibactériennes. Elles contribuent également à améliorer la digestion et à stimuler la location **[38]**.

- **Domaine alimentaire :** L'anis est utilisé comme épice depuis l'antiquité et occupe une place importante dans le domaine alimentaire. Son huile essentielle a longtemps été employée pour la conservation des aliments grâce à ses propriétés antimicrobiennes, limitant l'altération de certains produits alimentaires **[39]**. Elle est également utilisée comme agent aromatisant dans le pain, les pâtisseries, les confiseries et diverses boissons.

- **Domaine Agricole :** Les huiles essentielles sont reconnues pour leurs propriétés insecticides et peuvent être utilisées dans la lutte contre les ravageurs **[40]**. L'huile essentielle d'anis a montré une activité insecticide importante contre insectes des denrées stockées, avec des taux de mortalité pouvant atteindre 100% **[41]**.

- **Activités biologiques**

  - Activité antidiabétique : L'huile essentielle d'anis favorise l'absorption du glucose et contribue à la régulation de la glycémie **[42]**.

  - Activité antioxydant : L'anis présente une activité antioxydante importante en limitant l'action des radicaux libres et en réduisant la peroxydation lipidique **[43]**.

II.2. *Illicium verum*

Illicium verum, ou l'anis étoilé, également appelé badiane de Chine, est une plante originaire de Chine appartient à la famille des Schisandraceae et caractérisé par son feuillage persistant. Ses fruits sont largement utilisés comme épice dans de nombreuses préparations culinaires, notamment dans la cuisine asiatique **[44]**.

Outre son utilisation alimentaire, cette plante est également employée dans la médecine traditionnelle **[45]**. Des études ont montré qu'elle possède une activité antimicrobienne intéressante, ce qui explique son utilisation dans le traitement de certaines affections d'origine microbienne.



Figure II.4. Fruits d'*Illicium verum* à différentes stades de maturité **[46]**.

II.2.1. Classification taxonomique

La classification systématique d'*Illicium verum* est présentée dans le **Tableau II.3.** ci-dessous :

Tableau II.3. Classification taxonomique d'*Illicium verum* **[47]**.

Niveau taxonomique	**Classification**
Règne	Plantae
Division	Magnoliopsida
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Illiciales
Famille	Illiciaceae
Genre	*Illicium*
Espèce	*Illicium verum*

II.2.2. Origine et répartition géographique

Illicium verum est un arbre de type tropical originaire des régions du Sud-Est asiatique. Cette espèce ne se rencontre plus à l'état spontané dans la nature et est aujourd'hui exclusivement cultivée pour ses usages économiques et aromatiques. Par ailleurs, cette plante n'est pas indigène au Maroc ni à d'autre régions similaires, son approvisionnement impose une importation, principalement depuis la Chine et le Viêt Nam, qui constituent les principaux pays producteurs **[48]**.

II.2.3. Description botanique

llicium verum est un arbre tropical persistant à écorce lisse et blanchâtre, pouvant atteindre 8 à 15 mètres de hauteur **[49]**. Ses feuilles sont alternes, coriaces et lancéolées ; lorsqu'elles sont froissées, elles dégagent un parfum aromatique intense en raison de leur richesse en essences.

Ses fleurs solitaires possèdent de nombreux tépales dont la couleur varie du blanc verdâtre au rose-rouge. Elles donnent naissance à un fruit caractéristique : un polyfollicule ligneux en forme d'étoile à 8 branches. En mûrissant, ce fruit passe du vert au brun foncé et s'ouvre pour libérer, dans chaque cavité, une unique graine ovoïde, brune et très brillante **[50]**.



Figure II.5. Planche botanique historique d'*Illicium verum* **[51]**.

II.2.4. Étude phytochimique d'*Illicium verum*

II.2.4.1. Composition des graines

Contrairement au péricarpe qui concentre la majorité de la fraction volatile aromatique, les graines véritables d'*Illicium verum*, situées à l'intérieur des follicules de l'étoile, se caractérisent principalement par leur richesse en lipides non volatils, communément appelés huiles fixes, et en acides organiques spécifiques.

- **Huiles fixes (Lipides) :** Les graines contiennent environ 20% d'huile fixe. Cette fraction lipidique est majoritairement composée d'acides gras insaturés (tels que l'acide oléique et l'acide linoléique) et d'acides gras saturés (acide palmitique) **[52]**.
- **Acides organiques :** l'acide shikimique est un constituant moléculaire majeur *d'Illicium verum*. Il s'agit d'un précurseur biosynthétique crucial utilisé industriellement comme matière première pour la synthèse du phosphate d'oseltamivir (Tamiflu®), un agent antiviral de référence **[53]**.
- **Autres constituants :** Les graines renferment également des protéines de réserve, des résines, des tanins (9% à 10%) **[54]**.

II.2.4.2. Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle d'Illicium verum est obtenue principalement par hydrodistillation ou distillation à la vapeur des fruits secs. Le rendement moyen d'extraction varie généralement entre 2,5% et 5,0% selon le stade de maturité du fruit, les conditions climatiques et la méthode d'extraction employée **[55]**.

Les analyses par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) mettent en évidence un profil biochimique dominé par les phénylpropanoides, suivis de monoterpènes hydrocarbonés et oxygénés.

Tableau II.4. Composition chimique de l'huile essentielle des graines d'*Illicium verum.*

Famille biochimique	Composés principaux	Teneur (%)
Phénylpropanoïdes	(*E*)-anéthole	80,0 – 90,0
	Estragole	1,0 – 4,5
	Anisaldéhyde	0,1 - 0,5
Monoterpènes	Limonène	1,5 – 4,5
	Linalol	0,2 - 1,5
	α-pinène	0,3 – 1,0

II.2.5. Utilisation thérapeutique traditionnelle

Traditionnellement, l'anis étoilé est utilisé sous forme d'infusion préparée à raison de 5 g de fruits par litre d'eau bouillante. Il est recommandé pour soulagement de divers troubles digestifs tels que les ballonnements, les digestions difficiles.

Il est également employé comme traitement d'appoint des douleurs fonctionnelles digestives grâce à ses propriété carminatives, aromatisants et antidiarrhéiques **[56]**.

Plusieurs études ont mis en évidence diverses activités biologiques de l'anis étoilé. Permis celles -ci figurent l'activité antioxydante, la protection de l'ADN, les effets anti-inflammatoires et antiviraux **[57]**.

De plus, cette espèce possède des propriétés acaricides et insecticides, notamment lorsqu'elle est utilisée par fumigation **[58]**.

III. Conclusion

Ce chapitre a été consacré à l'étude monographique de *Pimpinella anisum L.* et *Illicium verum*, en présentant leurs caractéristiques botaniques, leur classification, leur composition phytochimique ainsi que les principaux constituants de leurs huiles essentielles. Les données bibliographiques ont montré que ces deux espèces constituent une source importante de composés bioactifs, notamment le (*E*)-anéthole, responsable d'une grande partie de leurs propriétés biologiques et de leurs applications thérapeutiques. Ainsi, cette étude bibliographique fournit une base scientifique solide pour mieux comprendre les caractéristiques de ces deux plantes et constitue un appui essentiel à l'interprétation des résultats expérimentaux présentés dans les chapitres suivants.

CHAPITRE III :

Matériels et méthodes

III.1. Objectif du travail

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer et de comparer l'activité antioxydante des huiles essentielles extraites des graines de deux plantes aromatiques d'intérêt thérapeutique : l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et la badiane (*Illicium verum*), ainsi que d'étudier l'effet de leur combinaison pour voir s'il y a une synergie.

Pour atteindre cet objectif général, la démarche expérimentale s'articule autour des trois axes spécifiques suivants :

- **Étude comparative de l'extraction et des rendements :** Réaliser l'extraction des huiles essentielles à partir des graines des deux matrices végétales en utilisant deux procédés distincts : l'hydrodistillation classique et la distillation par dispositif de Clevenger. Cet axe vise à comparer l'efficacité de ces deux méthodes à travers le calcul et l'analyse de leurs rendements quantitatifs respectifs.
- **Tests phytochimiques :** Des tests de coloration et de précipitation sont effectués sur des extraits éthanoliques des graines pour vérifier la présence ou l'absence de grandes familles de métabolites secondaires. Cette étude ciblera particulièrement les composés polyphénoliques (tanins et flavonoïdes), les composés réducteurs, les alcaloïdes, l'amidon, les anthocyanes et les coumarines.
- **Évaluation du pouvoir antioxydant :** Déterminer l'activité antioxydante in vitro des huiles essentielles de façon isolée, puis sous forme de mélanges, en mesurant leur capacité de piégeage du radical libre DPPH afin de vérifier si la combinaison des deux huiles augmente leur action.

III.2. Matériel et produits

III.2.1. Appareillage

UV spectrophotomètre, balance analytique, broyeur électrique, plaque chauffante, chauffe-ballon, montage de Clevenger, montage d'hydrodistillation classique, lampe ultraviolette UV.

III.2.2. Verreries

Béchers, pipettes, micropipettes, ballons, éprouvettes graduées, tubes à essais, ampoule à décanter, erlenmeyer.

III.2.3. Produits chimiques

Eau distillée, dichlorométhane CH_2Cl_2, sulfate de magnésium Na_2SO_4, éthanol C_2H_5OH, chlorure de fer $FeCl_3$, acide chlorhydrique HCl, limaille de magnésium Mg, liqueur de Fehling, acide sulfurique H_2SO_4, réactif de Wagner, réactif de Lugol, solution d'ammoniaque NH_4OH, hydroxyde de sodium NaOH, DPPH $C_{18}H_{12}N_5O_6$, acide ascorbique $C_6H_8O_6$.

III.3. Matériel végétal

III.3.1. Choix des plantes utilisée

Le choix des graines de l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et de la badiane (*Illicium verum*) pour cette étude repose sur plusieurs critères scientifiques et pratiques essentiels :

- **Une composition chimique similaire mais des origines différentes :** Bien que ces deux plantes appartiennent à des familles botaniques totalement distinctes (les Apiaceaes pour l'anis vert et les Schisandraceaes pour la badiane), leurs huiles essentielles partagent un composé majoritaire commun (l'anéthol). Cette molécule est largement reconnue pour ses nombreuses propriétés biologiques. Étudier ces deux matrices permet donc de comparer deux sources végétales différentes ayant un profil chimique très proche.
- **La recherche d'un effet de synergie :** L'intérêt principal de cette étude est d'évaluer l'activité antioxydante de leur mélange. Même si l'anéthol domine dans les deux huiles, les composés minoritaires diffèrent d'une plante à l'autre. Le mélange de ces deux huiles essentielles vise à observer si ces petits composants secondaires peuvent interagir ensemble pour améliorer, stabiliser ou multiplier l'efficacité antioxydante globale.
- **Une richesse en composés phénoliques dans les graines :** Les graines de l'anis et de la badiane sont connues pour être riches en antioxydants naturels, notamment en molécules polaires comme les flavonoïdes et les tanins.

- **Disponibilité :** Ce sont deux plantes aromatiques très accessibles, couramment utilisées en médecine traditionnelle, en cuisine et dans les industries cosmétique et pharmaceutique.

III.3.2. Origine et collecte du matériel végétal

Les graines d'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) et de badiane (*Illicium verum*) utilisées dans ce travail ont été achetées au début du mois d'avril 2026 auprès d'un herboriste local de la wilaya de Skikda. Concernant la provenance de ce matériel végétal, ces graines ont été approvisionnées par cet herboriste auprès des grossistes d'Aïn Oulmene, situés dans la wilaya de Sétif.



Figure III.1. Graines de *Pimpinella anisum.*



Figure III.2. Graines d'*Illicium verum.*

III.3.3. Préparation du matériel végétal

Avant le début des manipulations, les graines ont été triées et nettoyées afin d'éliminer les impuretés, puis conservées à température ambiante, à l'abri de la lumière et de l'humidité.

Ensuite, les graines ont été broyées et réduites en une poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique. Cette étape de broyage est indispensable afin d'augmenter la surface de contact entre la matière végétale et les solvants (ou la vapeur d'eau), ce qui permet d'optimiser l'extraction des huiles essentielles et de faciliter la libération des métabolites secondaires lors de la préparation des extraits éthanoliques. La poudre ainsi obtenue a été immédiatement stockée dans des flacons hermétiques pour éviter toute perte de composés volatils avant les analyses.



Figure III.3. Préparation de la poudre d'*Illicium verum.*

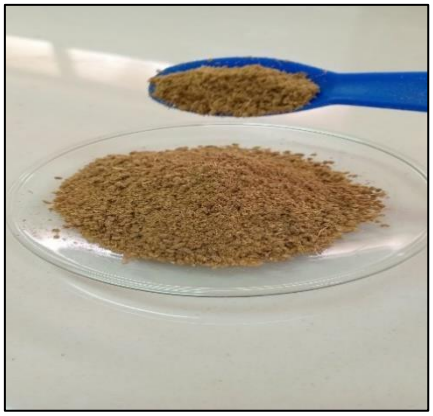


Figure III.4. Poudre de *Pimpinella anisum L.*

III.4. Extraction des huiles essentielles

Dans le cadre de ce travail expérimental, l'extraction des huiles essentielles à partir des graines de *Pimpinella anisum L.* et de d'*Illicium verum* a été réalisée en utilisant deux méthodes distinctes. Cette approche a pour but de comparer l'efficacité de chaque technique sur le plan quantitatif.

III.4.1. Extraction par hydrodistillation

- **Principe**

L'hydrodistillation est une méthode d'extraction des huiles essentielles basée sur l'entrainement à la vapeur d'eau des composés volatils contenus dans la plante.

La matière végétale est mélangée avec de l'eau distillée, puis portée l'ébullition. Sous l'effet de la chaleur, les cellules végétales se rompent et libèrent les molécules de l'huile essentielle **[59]**.

Les composés volatils forment avec l'eau un mélange de vapeur azéotrope. Cette vapeur est ensuite condensée grâce à un système de refroidissement, ce qui permit d'obtenir un mélange constitué d'eau et d'huile essentielle.

Enfin, la séparation des deux phases, aqueuse et organique, se fait par décantation, permettant ainsi la récupération de l'huile essentielle.

- **Mode opératoire**

L'extraction par hydrodistillation classique est réalisée en suivant les étapes suivantes :

- Un mélange de 100 g de poudre de graines (d'anis vert ou de badiane) et de 600 mL d'eau distillée est introduit dans un ballon de 1 L, puis est légèrement agité pour l'homogénéiser.
- Le mélange est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon sous agitation continue.
- À partir de la première goutte de distillat (le premier condensat), la distillation est maintenue à ébullition constante pendant une durée de 2 heures.
- Le distillat obtenu (mélange d'eau et d'huile) est versé dans une ampoule à décanter. Après un temps de repos, la phase organique supérieure (l'huile essentielle) est séparée de la phase aqueuse, séchée avec du sulfate de sodium anhydre Na_2SO_4, puis pesée.

- Enfin, l'huile essentielle obtenue a été récupérée, séchée, puis stockée à 4°C dans un flacon enveloppée de papier aluminium afin de la protéger de la lumière.

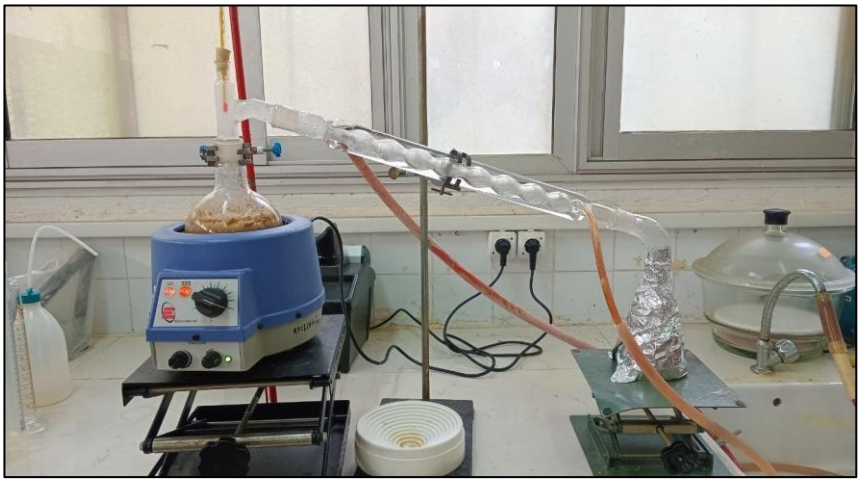


Figure III.5. Montage d'hydrodistillation.

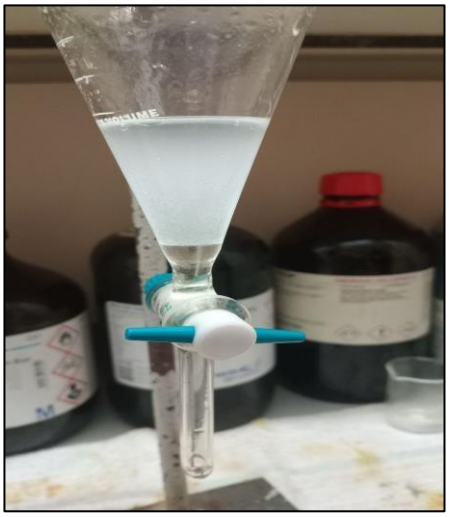


Figure III.6. Séparation de l'huile essentielle et de l'hydrolat.

III.4.2. Extraction par dispositif de Clevenger

- **Principe**

La distillation par l'appareil de Clevenger utilise le même principe que l'hydrodistillation classique, basé sur l'entraînement à la vapeur d'eau. La différence principale réside dans la présence d'un système de recyclage intégré **[60]**.

L'originalité de cette méthode repose sur le phénomène de cohobation : une fois que les vapeurs se condensent, l'huile essentielle se sépare et s'accumule dans la partie graduée, tandis

que l'eau distillée retourne automatiquement et de façon continue dans le ballon par un tube latéral.

Ce retour permanent de l'eau permet de maintenir un volume d'eau constant dans le ballon, d'éviter la saturation de l'eau par les composés aromatiques et d'optimiser considérablement le rendement final en huile essentielle **[61]**.

- **Mode opératoire**

L'extraction à l'aide de l'appareil de Clevenger se déroule selon le protocole suivant :

- De la même manière, un ballon contenant le mélange (100 g de poudre de graine et 600mL d'eau distillée) est surmonté du dispositif de Clevenger et d'un réfrigèrent vertical. Le tube gradué est préalablement rempli d'eau distillée.
- Le chauffage est maintenu pendant 2 heures. Les vapeurs condensées tombent dans le tube gradué. L'huile essentielle se sépare immédiatement et flotte à la surface, tandis que l'eau distillée en excès retourne automatiquement dans le ballon de distillation par le tube latéral.
- Après refroidissement complet de l'appareil, l'huile est ensuite récupérée, séchée, puis stockée à 4°C dans un flacon enveloppée de papier aluminium afin de la protéger de la lumière.

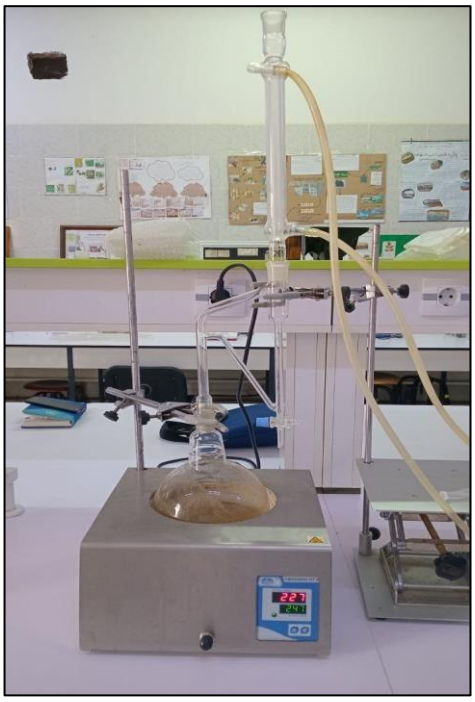


Figure III.7. Montage de distillation par dispositif de Clevenger.

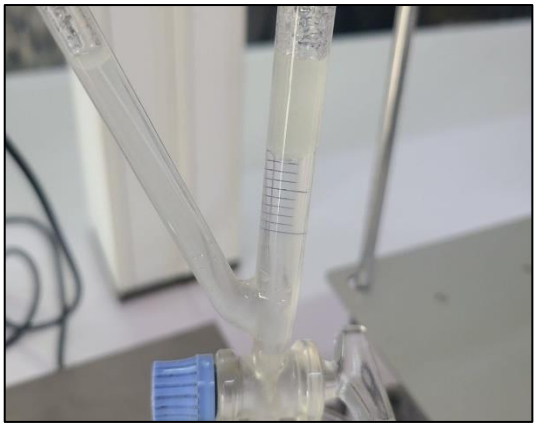


Figure III.8. Extraction d'huile essentielle.

III.4.3. Détermination du rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est un paramètre quantitatif fondamental qui permet d'évaluer l'efficacité de la méthode d'extraction et la richesse de la matrice végétale en composés volatils.

Le rendement exprimé en pourcentage (%) est calculé selon la formule suivante :

$$\boldsymbol{Rendement}\ (\%) = \frac{\boldsymbol{m_{HE}}}{\mathbf{m}_{\boldsymbol{MV}}}\boldsymbol{x100}$$

Avec :

$\boldsymbol{m_{HE}}$: La masse de l'huile essentielle récupérée après extraction et séchage (en grammes).

$\boldsymbol{m_{MV}}$: La masse initiale du matériel végétal sec introduit dans le ballon (en grammes).

III.4.4. Caractérisations organoleptiques des huiles essentielles

Les caractérisations organoleptiques (aspect, couleur, odeur et saveur) sont les premiers critères de contrôle de qualité et d'authenticité d'une huile essentielle au laboratoire.

III.5. Criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est une analyse qualitative rapide. Son but est de repérer la présence ou l'absence des grandes familles de molécules actives dans la plante (comme les flavonoïdes, les tanins ou les alcaloïdes).

Le principe repose sur des réactions chimiques simples en tubes à essais. En ajoutant un réactif spécifique à l'extrait végétal, la présence d'une molécule cible se traduit visuellement par : un changement de couleur, la formation d'un précipité et l'apparition d'une mousse persistante.

Ces tests visuels permettent d'obtenir rapidement la carte d'identité chimique de la plante avant de passer aux dosages ou aux tests d'activités biologiques.

III.5.1. Préparation de l'extrait éthanolique par macération

La macération alcoolique permet d'extraire un large spectre de métabolites secondaires grâce à la polarité de l'éthanol.

- **Mode opératoire**

➢ Une masse de 10 g de poudre végétale est mise à macérer à température ambiante pendant 24 heures dans 100 mL d'éthanol **[62]**.

➢ Le macérât obtenu est ensuite filtré sur du papier filtre de type Whatman N°1.

➢ Le filtrat est récupéré, puis conservé dans un flacon opaque à basse température avant d'être soumis aux différents tests de caractérisation décrits ci-dessous.



Figure III.9. Préparation de l'extrait éthanolique.

III.5.1.1. Recherche des tanins

- **Principe**

Le chlorure de fer $FeCl_3$ réagit avec les groupements phénoliques des tanins pour former des complexes colorés solubles.

- **Mode opératoire**

La présence des composés tanniques est révélée en mélangeant 1 mL de l'extrait éthanolique avec 2 mL d'eau distillée, suivi de l'ajout de 2 à 3 gouttes d'une solution diluée de chlorure de fer $FeCl_3$ à 1%.

L'apparition d'une coloration bleu-noirâtre indique la présence de tanins galliques, tandis qu'un virage vers une coloration verte ou bleu-vert révèle la présence de tanins catéchiques **[63]**.

III.5.1.2. Recherche des flavonoïdes

- **Principe**

La réduction des flavonoïdes par le magnésium en milieu acide provoque un changement de coloration caractéristique.

- **Mode opératoire**

La détection des flavonoïdes consiste à traiter un volume de 5 mL de l'extrait éthanolique avec 1 mL d'acide chlorhydrique HCl concentré et environ 0,5 g de limaille de magnésium **[64]**.

L'apparition d'une coloration rose, rouge ou orangée induite par la réduction des noyaux flavones après 3 minutes confirme la présence de flavonoïdes.

III.5.1.3. Recherche des composés réducteurs

- **Principe**

La détection des composés réducteurs comme les sucres simples (glucose ou fructose) repose sur une réaction d'oxydoréduction à chaud et en milieu alcalin. Les fonctions aldéhydes ou cétones libres du sucre réduisent les ions cuivriques Cu^{2+} de la liqueur de Fehling en ions cuivreux Cu^{+}.

- **Mode opératoire**

La détection des composés réducteurs est réalisée en diluant 1 mL d'extrait éthanolique dans un peu d'eau distillée, puis en ajoutant environ 20 gouttes de liqueur de Fehling. Le milieu est ensuite porté à ébullition au bain-marie pendant quelques minutes.

Un résultat positif se manifeste par la réduction des ions cuivriques Cu^{2+}, visible par la formation d'un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre Cu_2O **[65]**.

III.5.2. Préparation de l'extrait sulfurique par macération

- **Principe**

La macération dans l'acide sulfurique H_2SO_4 dilué permet de fragiliser les parois cellulaires de la plante et de solubiliser spécifiquement certaines molécules cibles sous forme de sels stables **[66]**.

- **Mode opératoire**

Une masse de poudre végétale sèche est mélangée à une solution d'acide sulfurique diluée (0,1 M). Le mélange macère à température ambiante sous agitation pendant 24 heures. Le mélange est ensuite filtré sur papier Whatman **[67]**.

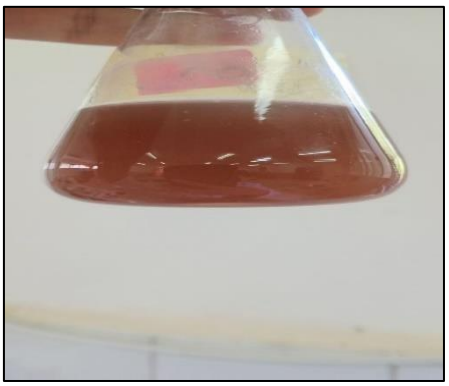


Figure III.10. Extrait sulfurique obtenu au laboratoire.

III.5.2.1. Recherche des alcaloïdes

- **Principe**

En milieu acide sulfurique, les alcaloïdes sont sous forme de sels solubles. Ils réagissent avec des réactifs spécifiques pour former des précipités insolubles visibles à l'œil nu.

- **Mode opératoire**

à un volume de 2 mL d'extrait sulfurique, sont ajoutées 2 à 3 gouttes de réactif de Wagner. L'apparition d'un précipité brun-rougeâtre confirme la présence des alcaloïdes **[68]**.

III.5.3. Préparation de l'extrait aqueux par décoction

- **Principe**

Le principe de la préparation de l'extrait aqueux repose sur une extraction par solvant polaire, permettant de dissoudre sélectivement les composés hydrophiles de la plante.

- **Mode opératoire**

Une masse de 10 g de poudre végétale a été introduit dans un ballon de 250 mL contenant 100 mL d'eau distillée. Le mélange a été porté à l'ébullition sous reflux pendant 15 minutes. Après refroidissement à température ambiante, le mélange a été filtré sur papier filtre Whatman **[62]**.



Figure III.11. Extrait aqueux obtenu au laboratoire.

III.5.3.1. Recherche des saponosides

- **Principe**

Les saponosides sont des hétérosides hétérogènes doués de fortes propriétés tensioactives. Lorsqu'ils sont mis en solution aqueuse et agités vigoureusement, ils abaissent la tension superficielle de l'eau et génèrent une mousse persistante et stable.

- **Mode opératoire**

Dans un tube à essai, introduire 5 mL du décocté aqueux préalablement préparé. Agiter le tube vigoureusement dans le sens vertical pendant 15 secondes. Laisser le tube au repos en position verticale pendant 15 minutes **[69]**.

La présence de saponosides est confirmée par la formation d'une colonne de mousse stable d'une hauteur supérieure ou égale à 1 cm.

III.5.3.2. Recherche de l'amidon

- **Principe**

L'amidon est un polyoside complexe (constitué d'amylose et d'amylopéctine). Le réactif de Lugol s'insère à l'intérieur de la structure en hélice de l'amylose. Cette inclusion forme un complexe de coordination qui absorbe la lumière et donne une coloration bleu-nuit intense caractéristique.

- **Mode opératoire**

Prélever 3 mL de l'extrait aqueux (décocté) et les placer dans un tube à essai. Ajouter goutte à goutte le réactif de Lugol **[70]**.

L'apparition immédiate d'une coloration bleue-sombre, violette ou noire indique la présence d'amidon.

III.5.3.3. Recherche des Anthocyanes

- **Principe**

Les anthocyanes sont des pigments hydrosolubles dont la structure chimique extrêmement sensible aux variations de pH. En milieu fortement acide (pH < 2), ils adoptent une structure de cation flavylium stable de couleur rouge vif. En milieu alcalin, ils virent au bleu-violâtre ou au verdâtre.

- **Mode opératoire**

Dans un tube à essai, introduire 2 mL du décocté aqueux. Acidifier le milieu en ajoutant quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué (HCl à 10% ou 1N). Observer le changement de teinte. Ajouter ensuite quelques gouttes d'une solution d'ammoniaque NH_4OH jusqu'à alcalinisation.

Le virage de la couleur initiale vers le rouge en milieu acide, puis vers le bleu-vert en milieu basique, confirme la présence d'anthocyanes.

III.5.3.4. Recherche des coumarines

- **Principe**

Les coumarines sont des molécules végétales capables de fluorer naturellement lorsqu'elles sont exposées à la lumière ultraviolette UV. En milieu basique et sous l'effet de la chaleur, leur structure chimique se transforme, ce qui augmente considérablement l'intensité de cette fluorescence.

- **Mode opératoire**

Une masse de 1g de poudre végétale a été introduite dans un tube à essai, puis humidifiée avec quelques gouttes d'eau distillée. L'ouverture du tube a été recouverte d'un morceau de papier filtre préalablement imbibé d'une solution diluée d'hydroxyde de sodium NaOH. Le tube a ensuite été placé dans un bain-marie bouillant afin de mener le mélange à ébullition et libérer les vapeurs. Après quelques minutes de chauffage, le papier filtre a été retiré puis exposé sous une lampe ultraviolette (UV) à 365nm **[71]**.

L'apparition d'une fluorescence jaune intense sur le papier révèle la présence de coumarines.

III.6. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Ce protocole suit la méthode originale de Blois (1958) pour l'évaluation de l'activité antioxydante par le test de piégeage des radicaux libres DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

III.6.1. Principe

Le test au DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est une méthode colorimétrique simple permettant de mesurer le pouvoir antioxydant. En solution, le radical libre stable DPPH˙ possède une coloration violette intense qui absorbe à une longueur d'onde de 517 nm.

Lorsqu'un antioxydant présent dans l'huile essentielle cède un atome d'hydrogène, le radical se réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine. Cette réaction entraîne une décoloration qui fait passer la solution du violet au jaune. L'intensité de la décoloration est directement proportionnelle à la capacité antioxydante de l'échantillon **[72]**.

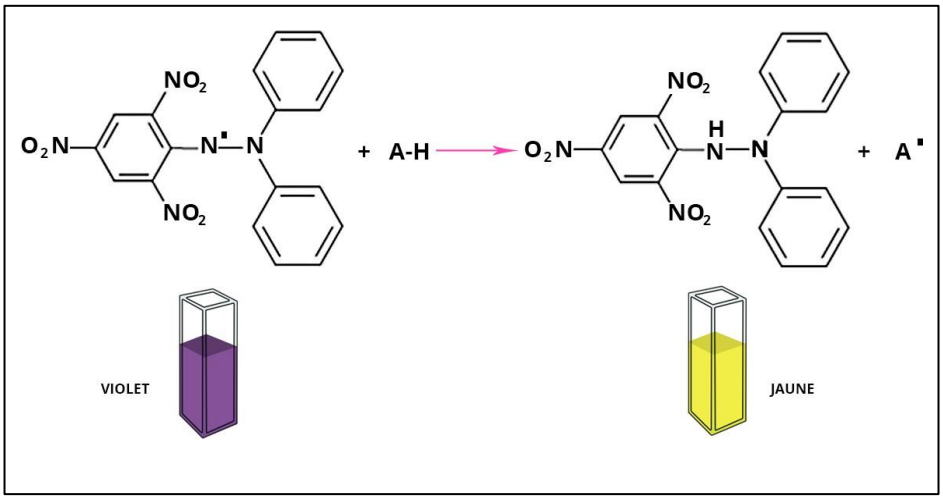


Figure III.12. Réaction de réduction du radicale libre DPPH˙ par un antioxydant A-H **[73]**.

III.6.2. Mode opératoire

Le protocole a été appliqué individuellement pour l'huile essentielle de *Pimpinella anisum L.*, celle d'*Illicium verum*, ainsi que pour leur mélange équivolumique.

Les huiles essentielles n'étant pas solubles dans l'eau, l'éthanol absolu sera utilisé comme solvant pour tout le protocole.

- **Préparation de la solution de DPPH**

Dissoudre 4 mg de DPPH ($C_{18}H_{12}N_5O_8$) dans 100 ml d'éthanol absolu afin d'obtenir une concentration de 0,04 mg/mL. La solution obtenue a été placée à l'obscurité sous agitation pendant 20 minutes afin d'obtenir une solution homogène.

- **Préparation des solutions mères des huiles essentielles**

Les solutions mères des deux huiles essentielles, ainsi que celle de leur mélange équivolumique, ont été préparées dans l'éthanol absolu à une concentration de 10 mg/mL.

- **Préparation de la solution référence d'acide ascorbique**

Une quantité de 1 mg d'acide ascorbique a été dissoute dans 1 ml d'éthanol pour obtenir la solution mère de concentration 1 mg/mL.

Prélever 500 µL de la solution mère et ajouter 4500 µL d'éthanol pour obtenir une solution dix fois moins concentrée. A partir de cette solution des dilutions successives ont été réalisées dans l'éthanol pour obtenir la gamme de concentrations finales nécessaires au test.

- **Préparation des dilutions**

À partir des solutions mères préparées, une gamme de dilutions successives est réalisée dans l'éthanol afin d'obtenir des concentrations finales allant de 156,25 à 5000 µg/mL (5000, 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25 µg/mL)

- **Réalisation du test**

Le test a été réalisé en mélangeant 1 mL de solution de DPPH préparée précédemment avec 1 mL des différentes concentrations de la solution huileuse.

- **Incubation et mesure**

Les tubes ont été agités puis incubés à l'obscurité, à température ambiante, pendant 30 minutes avant la mesure de l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm, en utilisant un blanc contenant uniquement de l'éthanol.



Figure III.13. Préparation des échantillons



Figure III.14. Spectrophotomètre utilisé pour la mesure des absorbances.

- **Expression des résultats**

Le pourcentage d'inhibition (PI%) des radicaux libres été calculé à l'aide de l'équation suivante :

$$\mathbf{PI\%} = \frac{\mathbf{A_{Blanc} - A_{Echantillon}}}{\mathbf{A_{Blanc}}} \mathbf{X\ 100}$$

Avec :

$\mathbf{A_{Blanc}}$ **:** Absorbance du DPPH˙.

$\mathbf{A_{Echantillon}}$ **:** Absorbance de l'échantillon.

- **Détermination de la concentration inhibitrice à 50% (IC_{50})**

La concentration Inhibitrice à 50 % (IC_{50}) correspond à la quantité d'huile essentielle nécessaire pour piéger la moitié des radicaux libres DPPH˙ du milieu.

Elle est calculée graphiquement par régression linéaire à partir de la courbe des pourcentages d'inhibition. Plus la valeur de la IC_{50} est faible, plus l'activité antioxydante de l'huile essentielle est puissante.

III.7. conclusion

Dans ce chapitre, les différents matériels, réactifs et méthodes expérimentales utilisés au cours de cette étude ont été présentés. Les protocoles d'extraction des huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et *Illicium verum*, les tests de criblage phytochimique ainsi que l'évaluation de l'activité antioxydante par le test du DPPH ont été décrits. Cette démarche méthodologique constitue une base essentielle pour obtenir des résultats fiables, qui seront présentés, analysés et discutés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE IV :

Résultats et discussions

IV.1. Introduction

Ce chapitre présente les résultats de nos travaux de recherche sur l'anis vert (*Pimpinella anisum*) et la badiane (*Illicium verum*).

Nous aborderons tout d'abord les rendements obtenus lors de l'extraction des huiles essentielles, suivis des résultats du criblage phytochimique des graines pour identifier leurs principaux composants chimiques. Enfin, nous évaluerons l'activité antioxydante par le test du DPPH, en comparant l'efficacité des deux huiles essentielles isolées ainsi que celle de leur mélange.

IV.2. Analyse et comparaison des rendements d'extraction

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par deux méthodes : l'hydrodistillation classique et le dispositif de Clevenger. Le **Tableau IV.1** regroupe les conditions expérimentales et les rendements obtenus.

Tableau IV.1. Rendements d'extraction des huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum.*

Méthode d'extraction	Matériel végétale	Masse végétale (g)	Volume d'eau (mL)	Temps	Masse d'huile essentielle (g)	Rendement (%)
Hydrodistillation classique	*Pimpinella anisum*	100	600	2 h	0,3	0,3
	Illicium verum	100	600	2 h	4,2	4,2
Distillation par dispositif de Clevenger	*Pimpinella anisum*	100	600	1 h	0,9	0,9
	Illicium verum	100	600	1 h	7,0	7,0

Les résultats montrent que le rendement dépend de la plante et de la méthode utilisée :

- **Hydrodistillation classique (2 h) :** La badiane (*Illicium verum*) donne un excellent rendement (4,2 %) par rapport à l'anis vert (*Pimpinella anisum L.*) (0,3 %). Cette différence s'explique par la nature morphologique des échantillons. Les graines de la badiane possèdent des poches sécrétrices en surface qui libèrent facilement leur huile

essentielle. À l'inverse, les graines d'anis vert ont des canaux plus profonds et rigides qui retiennent l'essence lors d'une distillation classique.

- **Dispositif de Clevenger (1 h) :** Ce système s'avère beaucoup plus performant que l'hydrodistillation classique. Il permet de tripler le rendement de *Pimpinella anisum L.* (0,9%) et presque doubler celui d'*Illicium verum* (7,0%), tout en réduisant le temps d'extraction de moitié, 1 heure au lieu de 2 heures, grâce à une meilleure optimisation du recyclage de l'eau et de la chaleur.

En conclusion, pour maximiser l'extraction de ces huiles aromatiques, l'utilisation du dispositif de Clevenger est la méthode la plus efficace, offrant un gain de temps et un rendement optimale.

IV.3. Caractérisations organoleptiques des huiles essentielles

Les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites des graines de *Pimpinella anisum* et d'*Illicium verum* sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau IV.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum.*

Caractéristiques	*Pimpinella anisum L.*	*Illicium verum*
Aspect	Liquide mobile, limpide	Liquide mobile, limpide
Couleur	Incolore à jaune pâle	Incolore à jaune claire
Odeur	Anisée et douce	Anisée et légèrement épicée
Saveur	Sucrée et légèrement piquante	Sucrée et aromatique



Figure IV.1. Huile essentielle de *Pimpinella anisum L.*



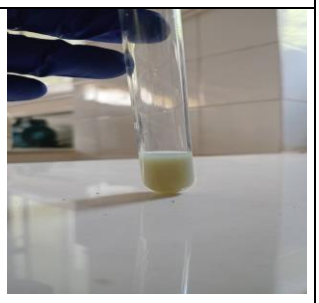
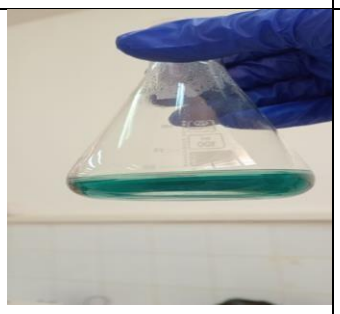
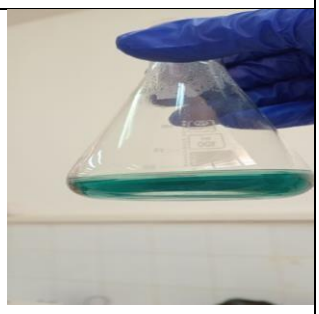
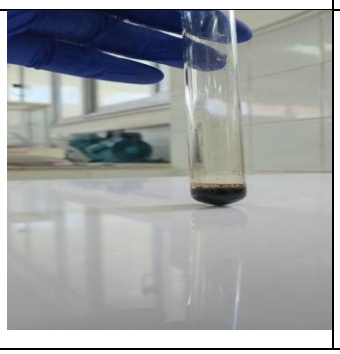
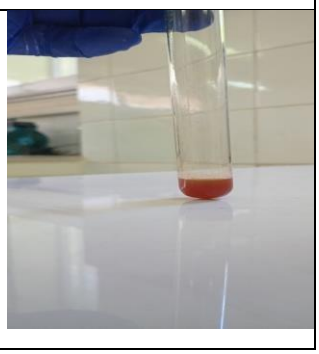
Figure IV.2. Huile essentielle d'*Illicium verum.*

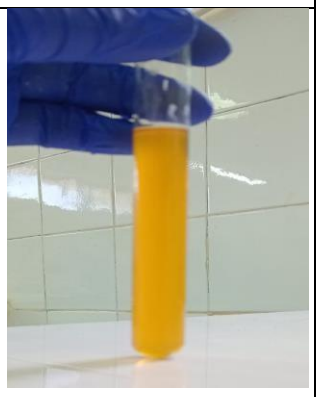
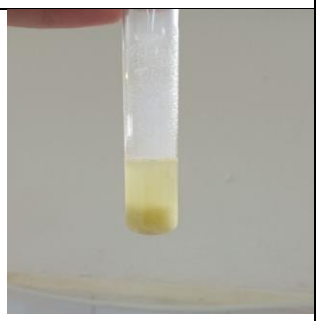
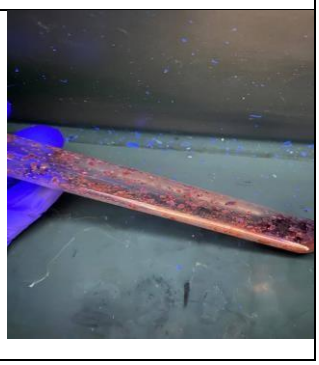
IV.4. Résultats du criblage phytochimique

Le criblage phytochimique est une étape qualitative essentielle qui permet de mettre en évidence les principales familles de métabolites secondaires présentes dans les extraits végétaux. Afin de caractériser et de comparer la composition chimique de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*, une série de tests colorés et de précipitation a été réalisée.

Les résultats, basés sur l'observation visuelle des changements de couleur ou de la formation de précipités, sont regroupés dans le tableau ci-dessus, où le signe (+) indique une présence et le signe (-) indique une absence du composé ciblé.

Tableau IV.3. Résultats du criblage phytochimique des extraits de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*.

Tests phytochimiques	*pimpenella anisum L.*	*Illicium verum*	Résultats de *Pimpinella anisum L.*	Résultats d'*Illicium verum*
Tanins	+	+		
Flavonoïdes	-	-		
Composés réducteurs	-	-		
Alcaloïdes	+	+		

Saponosides	-	-		
Amidon	-	-		
Anthocyanes	-	-		
Coumarines	-	-		

Les résultats montrent que les deux plantes ont exactement la même composition chimique pour les éléments testés :

- **Les métabolites secondaires présents (+) :** Les deux plantes contiennent des tanins et des alcaloïdes. Les tanins sont connus pour être de bons antioxydants, et les alcaloïdes donnent souvent aux plantes des propriétés médicinales.

- **Les métabolites secondaires absents (-) :** Les tests sont négatifs pour toutes les autres substances. Les deux plantes ne contiennent pas de flavonoïdes, de composés réducteurs, de saponosides, d'amidon, d'anthocyanes, ni de coumarines.

Bien que *Pimpinella anisum L.* (Apiaceae) et *Illicium verum* (Schisandraceae) appartiennent à des familles botaniques différente, elles se ressemblent beaucoup au niveau de composition chimique. Cela explique pourquoi elles sont toutes les deux utilisées de la même façon dans la médecine traditionnelle.

IV.5. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Le test du DPPH est une méthode rapide et très utilisée pour évaluer le pouvoir antioxydant d'un extrait végétal. Il repose sur la capacité des molécules actives présentes dans les huiles essentielles à donner un hydrogène pour piéger le radical libre DPPH˙, ce qui entraîne une décoloration de la solution.

Afin d'évaluer et de comparer l'efficacité de nos échantillons, nous avons testé l'huile essentielle de *Pimpinella anisum L.* (Anis vert), celle d'*Illicium verum* (Badiane) ainsi que leur mélange à différentes concentrations (allant de 156,25 à 5000 µg/mL). Les résultats de cette évaluation sont présentés ci-dessous :

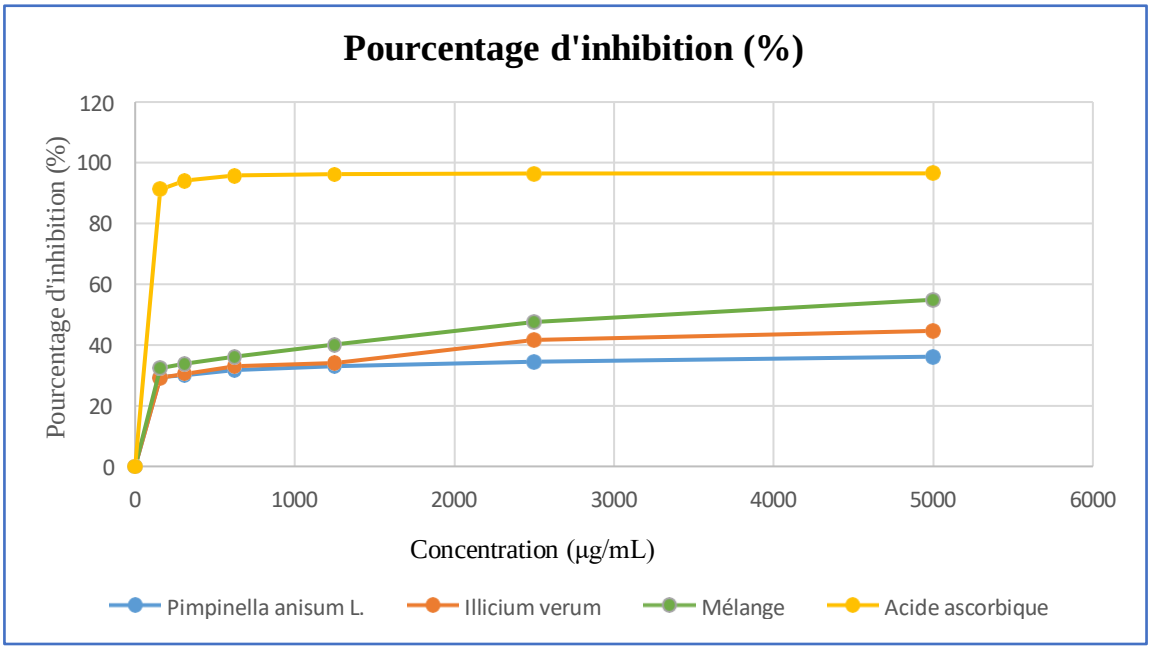


Figure IV.3. Pourcentage d'inhibition du radical DPPH˙ par les huiles essentielles, leur mélange et le témoin positif.

L'analyse des résultats montre ces conclusions principales :

- **L'effet de la concentration :** Pour l'Anis vert, la badiane et leur mélange, le pourcentage d'inhibition augmente régulièrement lorsque la concentration augmente. Le pouvoir antioxydant dépend donc directement de la dose utilisée.
- Témoin positif (acide ascorbique) : Il présente l'activité antioxydante la plus puissante, atteignant presque 100% d'inhibition dès les plus faibles concentrations.
- **Comparaison des huiles seules :** À forte concentration (5000 µg/mL), la badiane est légèrement plus efficace (environ 45%) que l'Anis vert (environ 35%). Cela indique que l'huile essentielle de la badiane piège un peu mieux les radicaux libres.
- **L'effet de synergie du mélange :** La combinaison des deux huiles essentielles donne un résultat supérieur, environ 55% d'inhibition à celui des huiles testées séparément. Cette efficacité supérieure prouve qu'il existe une synergie : les différentes constituants chimiques des deux plantes s'associent et renforcent leur action antioxydante.

En conclusion, ce test montre que les deux huiles essentielles possèdent une activité antioxydante intéressante, mais leur combinaison permet d'optimiser et d'augmenter cette activité protectrice.

- **Détermination de la concentration inhibitrice à 50% (IC_{50})**

Afin de comparer de manière précise et quantitative le potentiel antioxydant des différents échantillons testés, la détermination de la concentration inhibitrice à 50% (IC_{50}) constitue un paramètre d'évaluation indispensable. L'IC_{50} correspond à la concentration en échantillon nécessaire pour réduire ou piéger la moitié des radicaux libres de DPPH présents dans le milieu réactionnel. Selon ce principe, une valeur d'IC_{50} faible traduit l'efficacité et la puissance antioxydante d'un produit.

Les résultats de cette évaluation sont rassemblés et comparés dans la **Figure IV.4** ci-dessous :

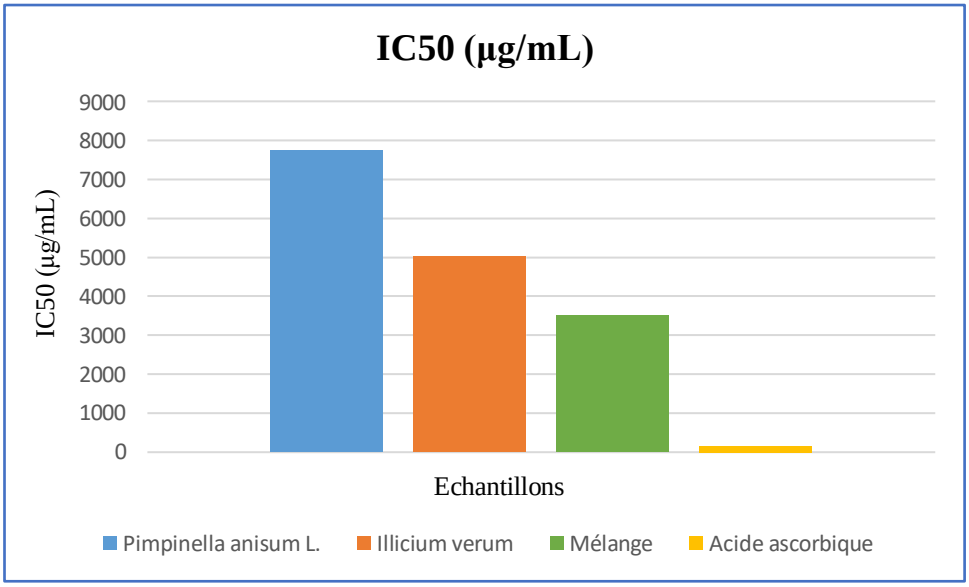


Figure IV.4. Comparaison des concentrations inhibitrice à 50% du radical DPPH˙ des différentes huiles essentielles, de leur mélange et du témoin.

Plus l'IC_{50} est basse, plus le pouvoir antioxydant est fort, car il faut une petite concentration de produit pour piéger 50 % des radicaux libres.

L'acide ascorbique affiche une valeur l'IC_{50} extrêmement basse, confirmant son statut de molécule antioxydante de référence hautement efficace.

Pimpinella anisum L. a l'activité la plus faible avec l'IC_{50} la plus haute (environ 7700 µg/mL), suivie par *Illicium verum* qui montre une meilleure efficacité (environ 5000 µg/mL).

Le mélange des deux huiles montre une valeur l'IC_{50} d'environ 3500 µg/mL. Cette valeur est significativement plus faible que celle des deux huiles essentielles prises individuellement.

Bien que les huiles essentielles requièrent des concentrations nettement plus fortes que le témoin positif pour atteindre 50% d'inhibition, la formulation en mélange se présente comme une excellente stratégie biotechnologique pour maximiser leur potentiel antioxydant naturel.

IV.6. Conclusion

Les résultats obtenus ont été présentés, analysés et comparés aux données de la littérature. Ils ont mis en des différences entre les huiles essentielles de *Pimpinella anisum L.* et d'*Illicium verum*, notamment en termes de rendement. Les essais ont également montré que la méthode d'extraction influence le rendement des huiles essentielles.

Les tests réalisés ont révélé une activité antioxydante des huiles essentielles, avec des niveaux variables. Ces résultats confirment l'intérêt de ces deux plantes comme source de composés naturels pouvant être utilisés dans les domaines pharmaceutique et alimentaire.

D'une manière générale, les résultats obtenus répondent aux objectifs de cette étude et constituent une base pour de futurs travaux visant à approfondir les recherches et à élargir les possibilités d'utilisation de ces substances naturelles.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Ce travail de fin d'études nous a permis d'étudier et de comparer deux plantes aromatiques et médicinales très importantes : l'anis vert *Pimpinella anisum L.* et la badiane *Illicium verum*. Notre étude s'est divisée en deux grandes parties : une recherche bibliographique sur la botanique, la chimie et les propriétés thérapeutiques de ces plantes, suivie d'une partie expérimentale basée sur l'extraction de leurs huiles essentielles, le criblage phytochimique et l'évaluation de leur pouvoir antioxydant.

Les résultats que nous avons obtenus lors de l'extraction montrent clairement que la badiane offre un meilleur rendement en huile essentielle que l'anis vert. Avec l'hydrodistillation classique, nous avons obtenu un rendement de 4,2 % pour la badiane contre seulement 0,3 % pour l'anis vert. En utilisant le dispositif de Clevenger, les rendements ont été plus élevés, atteignant 7,0 % pour l'anis étoilé et 0,9 % pour l'anis vert, selon les conditions opératoires choisies.

La comparaison de ces deux méthodes nous permet d'affirmer que le dispositif de Clevenger est plus performant que l'hydrodistillation classique. Il permet de mieux récupérer les composés volatils et d'obtenir un meilleur rendement en un temps plus court.

Concernant le criblage phytochimique, nos tests ont révélé la présence de tanins catéchiques et d'alcaloïdes dans les deux plantes. À l'inverse, les flavonoïdes, les composés réducteurs, l'amidon, les anthocyanes et les coumarines n'ont pas été détectés. De plus, le test des saponosides a montré que ces composés sont plus abondants chez la badiane que chez l'anis vert.

Pour ce qui est de l'activité antioxydante, évaluée par le test du DPPH, les résultats montrent que l'huile essentielle d'*Illicium verum* possède une activité légèrement supérieure à celle de *Pimpinella anisum L.*. Le point le plus intéressant est que le mélange des deux huiles essentielles a donné les meilleurs résultats de notre étude. Ce mélange présente un pourcentage d'inhibition plus élevé et une valeur d'IC_{50} plus faible, ce qui prouve l'existence d'un effet synergique entre les composants des deux huiles.

Finalement, l'anis vert et la badiane confirment leur statut de sources naturelles de grande valeur pour la production d'huiles essentielles. La badiane se distingue particulièrement par un meilleur rendement à l'extraction et une plus forte teneur en certains principes actifs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

[1] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils–a review. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446-475.

[2] Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. Medicines, 3(4), 25.

[3] Bruneton, J. (2016). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (5e éd.). Lavoisier Tec & Doc.

[4] Svoboda, K. P., & Svoboda, T. G. (2000). Secretory structures of aromatic and medicinal plants: A review and atlas of micrographs. Microscopical Society of Great Britain and Ireland.

[5] Fahn, A. (1979). Secretory tissues in plants. Academic Press.

[6] Boukhatem, M. N., Ferhat, M. A., Kameli, A., Saidi, F., & Mekarnia, M. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. Revue Agrobiologia, 9(2), 1653-1659.

[7] Chemat, F., & Strube, J. (Eds.). (2015). Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice. Wiley-VCH, 12-35.

[8] AFNOR. (2000). Huiles essentielles : Recueil de normes françaises. Tome 1 : Échantillonnage et méthodes d'analyse. Association Française de Normalisation, Paris.

[9] Fine, F., Vian, M. A., Tixier, A. S., Carre, P., Pages, X., & Chemat, F. (2013). Les agro-solvants pour l'extraction des huiles végétales et volatiles issues de biomasses. OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 20(5), A502.

[10] Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., & Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis L.*) peel. Food Chemistry, 119(3), 851-858.

[11] Organisation internationale de normalisation [ISO]. (2020). Huiles essentielles - Principes généraux d'analyse (Norme ISO 9235:2020).

[12] Bruneton J. 1999. Pahrmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Deuxième édition, Lavoisier, Paris. 915p.

[13] Pibiri M.C. (2005). Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huile essentielle. Thèse de Doctorat. Polytechniques Fédérale de Lausanne.

[14] Adams, R. P. (2007) Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (4th ed.). Allured Publishing Corporation.

[15] Organisation internationale de normalisation. (1998). Huiles essentielles - Directives générales concernant les profils chromatographiques - Partie 1 : Préparation des profils chromatographiques pour présentation dans les normes (Norme ISO No. 11024-1 :1998).

[16] Wagner, H., & Bladt, S. (2001). Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas (2nd ed.). Springer-Verlag.

[17] Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (Eds.). (2020). Handbook of essential oils: Science, technology, and applications (3rd ed.). CRC Press.

[18] Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., & Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. Medicines, 3(4), 25.

[19] Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. Phytotherapy Research, 21(4), 308–323.

[20] Valdivieso-Ugarte, M., Gomez-Llorente, C., Plaza-Díaz, J., & Gil, Á. (2019). Antimicrobial, antioxidant, and immunomodulatory properties of essential oils: A systematic review. Nutrients, 11(11),

[21] Lezeck, H., et al. (2025). Essential Oils Applied to Textile Substrates with Emphasis on Antibacterial Properties: Review Article. MDPI Molecules, 31(7), 1077.

[22] Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Science and Technology, 28(1), 25–30.

[23] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, 26(9-10), 1231–1237.

[24] Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry, 239(1), 70–76.

[25] Miller, H. E. (1971). A simplified method for the evaluation of antioxidants. Journal of the American Oil Chemists' Society, 48(2), 91–91.

[26] Patra, J. K., Das, G., Bose, S., Banerjee, S., Vishnuprasad, C. N., Rodriguez-Torres, M. P., & Shin, H. S. (2020). Star anise (*Illicium verum Hook. f.*) as a powerhouse of toxicological, pharmacological, and industrial applications: A comprehensive review. Phytotherapy Research, 34(3), 586-605.

[27] https://www.gettyimages.com/detail/photo/anise-pimpinella-anisum-royalty-free image/1400215082

[28] Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Botanical Journal of the Linnean Society, 181(1), 1–20.

[29] Arslan N., B. Gürbüz, E. O. Sarihan, A. Bayrak, and A. Gümüşçü.(2004). "Variation in essential oil content and composition in Turkish anise (*Pimpinella anisum L.*) populations," Turkish J. Agric. For., vol. 28, no. 3, pp. 173–177

[30] Chehma A. (2006). Catalogue des plantes spontanées du Sahara Septentrional Algérien, Edition Dar El Houda , P 87-106.

[31] Cengiz N. (2008). "Hepatoprotective Effects of Pimpinella anisum Seed Extract in Rats," pharmacologyonline, pp. 870–874.

[32] Blair, D. (1880). *Pimpinella Anisum, Linn.* [Illustration botanique]. Dans R. Bentley & H. Trimen, Medicinal Plants (Vol. 2, Planche 122). J. & A. Churchill.

[33] Al Daihan, S., Al Fifi, Z., & Bhat, R. S. (2013). Phytochemical screening and antibacterial activity of *Pimpinella anisum L.* seeds. Journal of Medicinal Plants Research, 7(26), 1950-1954.

[34] Shobha, S., Rajeshwari, S., & Devi, P. (2013). Phytochemical evaluation and antioxidant potential of *Pimpinella anisum L.* International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy, 4(3), 415-419.

[35] Bruneton, J. (2008). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.

[36] TNO. (1996). Volatile Compounds in Food: Qualitative and Quantitative Data (7th ed.). TNO Nutrition and Food Research Institute.

[37] Embong, M. B. O., Hadziyev, D., & Molund, G. R. (1997). Essential oils from spices grown in Alberta. Anise seed oil (*Pimpinella anisum L.*). Canadian Institute of Food Science and Technology Journal, 10(2), 134-137.

[38] Samojlik, I., Mijatović, V., Petković, S., Škrbić, B., Božin, B., (2012). The influence of essential oil of aniseed (Pimpinella anisum, L.) on drug effects on the central nervous system. Fitoterapia 83, 1466–1473

[39] Burt, S., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. a review international. J. Food Microbiol. 94, 223–253.

[40] Rattan, R.S., 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Prot. 29, 913–920.

[41] Rodrigues, V.M., Rosa, P.T.V., Marques, M.O.M., Petenate, A.J., Meireles, M.A.A., (2003). Supercritical extraction of essential oil from aniseed (Pimpinella anisum L) using CO2: solubility, kinetics, and composition data. J. Agric. Food Chem. 51, 1518–1523

[42] Kosalec, I., Pepeljnjak, S., & Kuštrak, D. (2005). Antifungal activity of fluid extract and essential oil fro from anise fruits (*Pimpinella Anisum L.*, Apiaceae). ActaPharmaceutica, 55(4),377-385.

[43] Tepe, A. S., & Tepe, B. (2015). Traditional use, biological activity potential and toxicity of Pimpinella species. Industrial Crops and Products, 69, 153-166. 2 6 7

[44] Patra, J. K., Das, G., Bose, S., Banerjee, S., Vishnuprasad, C. N., Rodriguez-Torres, M. P., & Shin, H. S. (2020). Star anise (Illicium verum Hook. f.) as a potential source of bioactive compounds and its medicinal value: A review. Journal of Functional Foods, 71, 104021.

[45] Wang, G. W., Hu, W. T., Huang, B. K., & Qin, L. P. (2011). Illicium verum: A review on its chemical composition and pharmacological properties. Journal of Ethnopharmacology, 136(1), 10-20.

[46] https://emmanuellegrenon.com/badiane-etoile-sante/

[47] Boukhatem, F. (2017). Activité antibactérienne de l'huile essentielle de deux épices : Syzygium Aromaticum et Illicium Verum. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostganem (Algérie) .46p.

[48] Asdadi, A. (2014). Badiane : Reméde ou poison ? Infosanté : la revue des professionnels de la santé et du médicament, 36-37.

[49] Flora of China Editorial Committee. (2008). Schisandraceae: Illicium verum Hook. f. Dans Z. Y. Wu, P. H. Raven & D. Y. Hong (Eds.), Flora of China (Vol. 7, pp. 48-49). Science Press & Missouri Botanical Garden Press.

[50] Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (2008). Chemistry of spices. CAB International.

[51] Turpin, P. J. F. (Dessinateur), & Lambert, F. (Graveur). (1814–1820). Anis étoilé (Planche 50). Dans F.-P. Chaumeton, J.-L.-M. Poiret & J.-B.-J.-A.-C. Chamberet, Flore médicale. C.L.F. Panckoucke.

[52] Chempakam, B., & Balaji, S. (2008). Star anise. In V. A. Parthasarathy, B. Chempakam, & T. J. Zachariah (Eds.), Chemistry of Spices (pp. 319–330). CABI Digital Library.

[53] Zou, Q., Huang, Y., Zhang, W., Lu, C., & Yuan, J. (2023). A Comprehensive Review of the Pharmacology, Chemistry, Traditional Uses and Quality Control of Star Anise (Illicium verum Hook. F.): An Aromatic Medicinal Plant. Molecules, 28(21), Article 7378.

[54] Pahore, A. K. (2023). Medicinal Properties of Illicium Verum Hook. F. Journal of Liaquat University of Medical & Health Sciences, (Online First), 1-6.

[55] Noumi, E., Ahmad, I., Adnan, M., Patel, H., Merghni, A., Haddaji, N.. (2023). *Illicium verum L.* (Star Anise) Essential Oil: GC/MS Profile, Molecular Docking Study, In Silico ADME Profiling, Quorum Sensing, and Biofilm-Inhibiting Effect on Foodborne Bacteria. Molecules, 28(23), Article 7691.

[56] Abdelhaï, S. (1991) Les plantes médicinales du Maroc. Le Fennec.Casablanca.

[57] Dinesha, R., et al., The antioxidant and DNA protectant activities of Star Anise (Illicium verum) aqueous extracts. 2(5): p. 98-103

[58] Kim, S.-I., et al., (2007) Contact and fumigant toxicity of oriental medicinal plant extracts against Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae). Veterinary Parasitology. 145: p. 377-382

[59] Rassem,J. W. A. et al. (2016). Technique for extraction of essential oils frome plants: A review. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 10(16), 117-127.

[60] Clevenger, J. F. (1928). Apparatus for the determination of volatile oil. Journal of the American Pharmaceutical Association, 17(4), 345-349.

[61] Presti, M., Ragusa, S., Trozzi, A., & Dugo, G. (2005). A comparison between different techniques for the isolation of essential oils. Journal of Essential Oil Research, 17(5), 539-545.

[62] Bruneton, J. (2016). Phytochimie, pharmacognosie, plantes médicinales (5^{e} éd.). Lavoisier Tec & Doc.

[63] Dogra, S., Koul, B., Singh, J., et al. (2024). Phytochemical Analysis, Antimicrobial Screening and In Vitro Pharmacological Activity of Artemisia Leaf Extract. Molecules, 29(8), 1829.

[64] Shinoda, J. (1928). A new coloring reaction of flavone derivatives. Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, 48(3), 214-220.

[65] Bushirat, F. O., Adewuyi, H. A., et al. (2025). Phytochemical analysis, antioxidant, and antibacterial properties of partition fractions using ethanol and aqueous solvent systems. Journal of Biomedical and Clinical Research, 18(2), 199-212.

[66] Mathe, E., Sethoga, L., Mapfumari, S., et al. (2024). Phytochemical Screening and Characterization of Volatile Compounds from Medicinal Plants. Life, 14(11), 1375.

[67] Mustapha, R. K., et al. (2026). Exploring the antimicrobial properties of plant leaves through phytochemical investigation. Journal of Advanced Sciences and Engineering Systems, 8(1), 112-125.

[68] Dogra, S., Koul, B., Singh, J., et al. (2024). Phytochemical Analysis, Antimicrobial Screening and In Vitro Pharmacological Activity. Molecules, 29(8), 1829.

[69] Dohou, N., Yamni, K., Sari, D., Tahrouch, S., Cherrah, M., & Faid, M. (2003). Screening phytochimique d'une endémique ibéro-marocaine, Thymelaea lythroides. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 142, 61-78.

[70] Harborne, J. B. (1998). Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis (3rd ed.). Chapman & Hall.

[71] Rizk, A. M. (1982). Constituents of plants growing in Qatar: I. A phytochemical survey of some plants. Fitoterapia, 52(1), 35-44.

[72] Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature, 181(4617), 1199–1200. https://doi.org/10.1038/1811199a0

[73] https://chimactiv.agroparistech.fr/fr/aliments/antioxydant-dpph/principe.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Popular and democratic of Algeria
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Minister of higher education and scientific research

University Of 20 August 1955 Skikda Faculty of science department of chemistry	SKIKDA	جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة كلية العلوم قسم الكيمياء

Le : 23/07/2026

Autorisation de dépôt de Mémoire de Master

Je soussigne : MEGUELLATI Amel

Certifier que l'étudiant (e) :

Beghiel Meriem

Spécialité : Chimie Organique

Intitulé :

Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Pimpinella anisum L. et d'Illicium verum

A apporté les corrections relatives à son travail de mémoire de Master.

Meguellati

Scanné avec CamScanner

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Popular and democratic of Algeria
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Minister of higher education and scientific research

University Of 20 August 1955 Skikda Faculty of science department of chemistry	SKIKDA	جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة كلية العلوم قسم الكيمياء

Le : 23./..07../..2026.

Autorisation de dépôt de Mémoire de Master

Je soussigne :.....MEGUELLATI Amel.....

Certifier que l'étudiant (e) :

.....MOKHNACHE Racha.....

Spécialité :.....Chimie Organique.....

Intitulé :

.....Evaluation de l'activité antioxydante.....
.....des huiles essentielles de Pimpinella anisum L.....
.....et d'Illicium verum.....

A apporté les corrections relatives à son travail de mémoire de Master.

Meguellati

Scanné avec CamScanner