

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire Présenté par

BOURAHLA Ibtissem

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des substances naturelles

Titre

**Dosage de cuminaldéhyde dans l'extrait de *Cumin* et
d'ansaldéhyde dans l'huile essentielle d'*Anis vert* par
spectrométrie IRTF**

Soutenu le 27/09/2011, devant le jury composé de :

Y. DAGHBOUCHE	Pr. (USDB)	Présidente
N. BOUCHENAF SAIB	MCA (USDB)	Examineur
Z. CHEMAT	MCB (USDB)	Examineur
N. BOUZIDI	MCB (USDB)	Rapporteur

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire Présenté par

BOURAHLA Ibtissem

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des substances naturelles

Titre

**Dosage de cuminaldéhyde dans l'extrait de *Cumin* et
d'anisaldéhyde dans l'huile essentielle d'*Anis vert* par
spectrométrie IRTF**

Soutenu le 27/09/2011, devant le jury composé de :

Y. DAGHBOUCHE	Pr. (USDB)	Présidente
N. BOUCHENAF SAIB	MCA (USDB)	Examineur
Z. CHEMAT	MCB (USDB)	Examineur
N. BOUZIDI	MCB (USDB)	Rapporteur

RESUME

Le présent travail porte sur l'étude chimique de l'extrait d'une plante médicinale et aromatique utilisée comme épice, il s'agit du cumin (*Cuminum cyminum Linné*) et l'huile essentielle d'une autre épice (*Pimpinella anisum Linné*). La première partie est consacrée à l'étude de l'huile essentielle (HE) du cumin obtenue par hydrodistillation, avec un rendement de 0.97%. L'identification des composés de l'huile essentielle est réalisée par le couplage chromatographique en phase gazeuse / spectrométrie de masse (CG/SM), en se basant sur les banques de données spectrales de l'appareil. La composition chimique de l'HE est dominée par des terpènes et particulièrement des monoterpènes (64.89%), ainsi que des composés oxygénés (19.15%), des acides gras (3.38%) et d'autres composés chimiques non identifiés (3%).

La deuxième partie consiste à doser quantitativement le cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin et l'anisaldéhyde dans l'huile essentielle de l'anis vert par spectrométrie IRTF.

Le taux de cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin a été obtenu sans traitement préalable, la bande spécifique considérée est à 1097 cm^{-1} corrigée avec une ligne de base stabilisée entre $957 - 1325\text{ cm}^{-1}$. Le taux de cuminaldéhyde obtenu par cette méthode est de 40.75%.

Etant donné que le taux d'anisaldéhyde est faible dans l'huile essentielle d'anis vert, la détermination de ce dernier par spectrométrie IRTF a été effectuée après dilution de l'HE dans le solvant et ce, après l'enrichissement. En considérant la bande d'absorbance spécifique à 1216 cm^{-1} corrigée avec une ligne de base stabilisée entre $658 - 1792\text{ cm}^{-1}$. Le taux de l'anisaldéhyde dans l'anis vert est de 0.14%.

Mots clé : cumin, anis vert, cuminaldéhyde, anisaldéhyde, CG/SM, spectrométrie IRTF, addition standard



ABSTRACT

This work focuses on the chemical study of the extract of cumin (*Cuminum cyminum* Linnaeus) and the essential oil of anise (*Pimpinella anisum* Linnaeus). The first part is devoted to the study of the essential oil obtained by hydrodistillation of cumin, with a yield of 0.97%. The identification of the compounds of the essential oil is produced by coupling gas chromatography/ mass spectrometry (GC/MS), based on spectral database of the device. The chemical composition of the essential oil is dominated by terpenes, particularly monoterpenes (64.89%) and oxygenated compounds (19.15%), fatty acids (3.38%) and other unidentified chemicals (3%).

The second part is devoted to measure quantitatively of the cuminaldéhyde in the extract of cumin and anisaldéhyde in the essential oil of anise by FTIR.

The rate of cuminaldéhyde in the extract of cumin was obtained without treatment, the specific band at 1097 cm^{-1} is considered corrected with a baseline stabilized between $957\text{-}1325\text{ cm}^{-1}$. Cuminaldéhyde rate obtained by this method is 40.75%.

Since the rate of anisaldéhyde is low in the essential oil of anise, the determination of the latter by FTIR was carried out after dilution of the essential oil in the solvent and enrichment. Considering the specific absorbance band at 1216 cm^{-1} corrected with a baseline stabilized between $658\text{-}1792\text{ cm}^{-1}$. The rate of anisaldehyde in the anise is 0.14%.

Key words: Cumin, anise, cuminaldehyde, anisaldehyde, GC/MS, FTIR spectrometry, standard addition

ملخص

هذا العمل يندرج ضمن الدراسة الكيميائية لمستخلص نبات الكمون الطبي و العطري الذي يستعمل كتابل، و الزيت الأساسي لبذور البسباس.

الجزء الأول يتضمّن دراسة الزيت الأساسي للكمون المتحصّل عليها بالتقطير المائي بمردود 0.97%. لمعرفة مكوّنات هذا الزيت الأساسي استعملنا الكروماتوغرافيا الغازية المزودة مع مطيافية الكتلة، مرتكزين على البيانات الطيفية للجهاز.

هذا الزيت الأساسي يتكوّن من مركّبات تربينية، و بصفة خاصة أحادية التربين (64.89 %)، و أيضا مركّبات اكسجينية (19.15 %)، أحماض دسمة (3.38 %) و مركّبات كيميائية أخرى غير معرفة (3 %). الجزء الثاني يشمل معايرة كمّية للكيمان الدهيد في مستخلص الكمون و الأنيس الدهيد في الزيت الأساسي لبذور البسباس، عن طريق القياس الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فوريي.

نسبة الكيمان الدهيد في مستخلص الكمون تمّ التحصل عليها بدون معالجة مسبقة، و ذلك باستعمال الموجة الخاصة المعتمدة عند 1097 سم⁻¹ مع قاعدة مصححة بين 957 و 1325 سم⁻¹. نسبة الكيمان الدهيد المتحصّل عليها بهذه الطريقة هي 40.75 %.

نظرا للنسبة المنخفضة للأنيس الدهيد في الزيت الأساسي لبذور البسباس، تمّ تحديد هذه الأخيرة بطريقة المطيافية تحت الحمراء لتحويل فوريي. و ذلك بعد اماهة الزيت الأساسي في المحلول، و بعد تشييعه بالمحلل باعتبار موجة الامتصاص الخاصة عند 1216 سم⁻¹ مع قاعدة مصححة بين 658 و 1792 سم⁻¹. نسبة الانيس الدهيد في بذور البسباس هي 0.14 %.

الكلمات المفتاحية:

كمون، بذور البسباس، كيمان الدهيد، انيس الدهيد، الكروماتوغرافيا الغازية مزودة مع مطيافية الكتلة، القياس الطيفي بالأشعة الحمراء لتحويل فوريي، اضافة محلول مرجعي.

REMERCIEMENTS

Avant toute chose, je tiens à remercier Dieu le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.

J'ai eu la chance d'effectuer ce travail minutieux au laboratoire de chimie des substances naturelles du Département de chimie de l'université de Blida.

Tout d'abord, je remercie sincèrement Madame N. BOUZIDI, Maître de Conférences à l'Université de Blida, qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir accordé sa confiance et guidé dans mon travail. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche.

Je tiens particulièrement à remercier Mr EL HATTAB, Maître de conférences pour son soutien, sa disponibilité, son intérêt pour ce travail et pour les nombreux conseils avisés, qu'il a pu me donner tout au long de le mémoire

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame Y. DAGHBOUCHE, Professeur à l'Université de Blida, aussi bien pour son aide et ses encouragements et pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie Madame N. SAIB BOUCHNAFA, Maître de conférences à l'Université de Blida pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

Je remercie Madame Z. CHEMAT, Maître de conférences l'Université de Blida, pour avoir accepté d'examiner ce travail.

DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mon très cher Papa.

Tous les qualificatifs du monde ne pouvant décrire ta gentillesse et ta compréhension envers moi. Longue vie à toi Papa.

A ma très chère Maman.

Aucune ne serait être aussi courageuse que toi. Malgré ta longue maladie tu n'a cesse de me remonter le morale dès que tu ressens qu'il ya besoin. Que dieu le tout puissant te guérise.

A mes frères et sœurs : Imad Allaa -Nesrine-Widad et la petite Chaïma.

Pour l'espoir que nourrisse en moi et pour le respect que vous ne témoigner, j'espère être pour vous l'exemple à suivre.

A mon Mohamed, sa femme Rachida et deux fils Ryadh et Walid.

Vous étiez mon propulseur quand les forces me manquent et vous me conseillez tout Le temps d'aller à l'avant et de me jamais décourager.

A ma grand-mère Zoulikha.

Toujours disposé à nous chérir et à nous aider sans relache.

A ma tante Faiza.

Toujours calme et sereine.

A mon oncle maternelle Abdelkader, sa femme Dalila et ses filles lamia, Romaisa et ses fils Mohamed et Abdelwadoud.

Je ne serais oublié l'aide morale que vous m'apporté.

A ma cousine et amie Samiha.

Ton amitié me rechaufe le cœur.

A mes intimes Hanane Bensaada et Dafei. Votre tendresse n'a d'égale que la bonté de votre cœur.

A mes amies : Sarah, Sarah et Leila. Pour les moments innoubliables qu'on a passé ensemble.

A mes collègues : Asma- Assia- Amira -Djawida -Hanane M -Hanane Z Nassima -Soraya -Karima- Zahida- Nawel -Aboubakr, Rédha, Mohamed

Vous étiez la force de ma réussite.

Table des matières

Résumé (Français, Anglais, Arabe)	I,II,III
Remerciement	IV
Dédicace	V
Table des matières	VI
Liste des figures	1
Liste des tableaux	2
Liste des abréviations	3
Introduction générale	4

Chapitre I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Introduction	6
I.2 huile essentielle	7
I.2.1 Terpènes	8
I.2.1.1 Monoterpènes	11
I.2.2 Composés aromatiques	12
I.3 Espèces étudiés	12
I.3.1 Cumin	15
I.3.2 Anis vert	18
I.4 Procédés d'extraction	18
I.4.1 Hydrodistillation	19
I.4.2 Extraction par solvant organique	20

I.5 Méthode d'analyse	21
I.5.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)	21
I.5.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM	21
I.5.3 Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier IRTF	22
I.5.3.1 Application qualitative de la spectrométrie IRTF	22
I.5.3.2 Application qualitative de la spectrométrie IRTF	23

CHAPITRE II : ETUDE CHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE CUMIN PAR CG/SM

II.1 Introduction	25
II.2 Partie expérimentale	25
II.2.1 Appareillage	25
II.2.1.1 Chromatographie sur couche mince CCM	25
II.2.1.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CG/SM	25
II.2.2. Réactifs	26
II.3 Procédure générale	26
II.3.1 Préparation de l'huile essentielle de cumin	26
II.3.1.1 Hydrodistillation	26
II.3.2 Extraction liquide -liquide	27
II.4 Détermination de cuminaldéhyde par CCM	28
II.5. Etude analytique de l'huile essentielle de cumin par CG/SM	29

II.5.1 Identification des produits de l'huile essentielle de cumin	29
II.5.2 Résultats et discussion	31

**CHAPITRE III: DOSAGE DE CUMINALDÉHYDE DANS
L'EXTRAIT DE CUMIN ET L'ANISALDÉHYDE DANS
L'HUILE ESSENTIELLE DE L'ANIS VERT**

III.1 Introduction	36
III.2 Partie expérimentale	36
III.2.1 Appareillage et réactifs	36
III.2.1.1 Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier	36
III.2.1.2 Réactifs	37
III.3 Procédure générale	37
III.3.1 Préparation de l'extrait du cumin	37
III.3.2 Préparation de l'huile essentielle d'anis vert	38
III.3.2.1 Hydrodistillation	38
III.3.2.2 Extraction liquide -liquide	39
III.4 Détermination de cuminaldéhyde et d'anisaldéhyde par spectrométrie IRTF	40
III.4.1 Détermination du taux de cuminaldéhyde par IRTF	41
III.4.2 Détermination du taux d'anisaldéhyde par IRTF	41
III.5 Résultats et discussion	41

III.5 1 Analyse IRTF du cumin	41
III.5 1.1 Spectre IRTF du cuminaldéhyde dilué dans CH ₂ Cl ₂	41
III.5 1.2 Choix de la bande caractéristique pour la détermination du cuminaldéhyde par spectrométrie IRTF	42
III.5 1.3 Détermination du cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin	44
III 5.2 Analyse IRTF de l'anis vert	45
III 5.2.1 Spectre IRTF de l'anisaldéhyde dans CH ₂ Cl ₂	45
III 5.2.2 Sélection de la bande spécifique pour la détermination de l'anisaldéhyde dans l'anis vert par spectrométrie IRTF	46
III 5.2.3 Détermination de l'anisaldéhyde dans l'HE de l'anis vert	47
Conclusion générale	51
Références bibliographiques	54

Liste des figures

Figure I.1	Molécules d'isoprène	8
Figure I.2	Synthèse de différents types des terpènes	9
Figure I.3	Classement des monoterpènes	11
Figure I.4	La voie de synthèse de l'acide shikimique	12
Figure I.5	Grains de cumin a), et plante du cumin b)	14
Figure I.6	Grains d'anis vert a), et plante d'anis vert b	18
Figure II.1	Equipement utilisé pour l'analyse CG/SM	22
Figure II.2	Extraction liquide -liquide	23
Figure II.3	Révélation de l'extrait de cumin par la lampe UV	24
Figure II.4	Le profil chromatographique de l'huile essentielle de cumin	24
Figure II.5	Représentation de la composition chimique de l'huile essentielle de cumin	27
Figure II.6	Le profil chromatographique de l'huile essentielle de cumin	28
Figure II.7	Spectre de masse de cuminaldéhyde	33
Figure III.1	Montage de flux utilisé pour l'étude quantitative	37
Figure III.2	Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale	38
Figure III.3	Montage de l'hydrodistillation utilisant le Clevenger	39
Figure III.4	Extraction liquide -liquide	40
Figure III.5	Spectre IRTF du cuminaldéhyde préparé directement dans CH_2Cl_2 Spectres d'absorbance de cuminaldéhyde préparé directement dans	41
Figure III.6	CH_2Cl_2 , pour un domaine de concentration compris entre $0.7\text{--}10\text{mg.ml}^{-1}$	42

Figure III.7	Spectre IRTF d'environ 109.7 mg d'extrait de cumin dilué dans 5 ml de CH_2Cl_2	45
Figure III.8	Spectre IRTF de l'anisaldéhyde dans CH_2Cl_2 à une concentration de 5 mg.ml^{-1}	46
Figure III.9	Spectres d'absorbance d'une serie de solutions étalons d'anisaldéhyde préparée directement dans CH_2Cl_2	46
Figure III.10	Spectre IRTF d'anis vert dans CH_2Cl_2 avant l'enrichissement (a), et après enrichissement(b)	49

Liste des tableaux

Tableau II.1	Composition chimique de l'huile essentielle de cumin	28
Tableau III.1	Caractéristiques analytiques du cuminaldéhyde dans CH_2Cl_2	42
Tableau III.2	Pourcentage de cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin	43
Tableau III.3	Caractéristiques analytiques de l'anisaldéhyde dilué dans CH_2Cl_2 Pour différentes bandes	46
Tableau III.4	Quantités d'HE d'anis vert et d'HE d'anis vert enrichie en anisaldéhyde utilisées pour effectuer la détermination quantitative	47
Tableau III.5	Taux d'anisaldéhyde obtenu dans l'huile essentielle d'anis vert	47

LISTE DES ABREVIATIONS

IRTF : Infrarouge à transformée de Fourier

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse/ spectrométrie de masse

CLHP : Chromatographie liquide à haute performance

CCM : chromatographie sur couche mince

EFS : Extraction par fluide supercritique

HD : Hydrodistillation

EPS : Extraction en phase solide

ESU : Extraction assistée aux ultrasons

HE: Huile essentielle

AcOEt: Acétate d'éthyle

mn: Minute

%: Pourcentage

t_r: Temps de rétention

L.B: Ligne de base

Max: Maximum

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base : nourriture, abris et également pour ses nécessités médicales. L'utilisation thérapeutique des vertus des plantes dans le traitement des maladies de est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

La majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, ont recours à des plantes médicinales pour se soigner, par manque d'accès aux médicaments prescrits par la médecine moderne mais aussi par ce que ces plantes ont souvent une réelle efficacité.

De nos jours, les produits naturels sont une source importante pour la recherche de nouveaux composés actifs utilisés dans diverses industries. La valorisation des plantes médicinales passe notamment par l'isolement et l'identification de nouvelles molécules s'effectuant par des fractionnements guidés par l'activité sur une cible biologique.

L'étude des huiles essentielles reste toujours d'actualité malgré son ancienneté ainsi que le développement exponentiel de la biotechnologie végétale. L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et, avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques qui ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) d'authentiques médicaments.

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques. La première approche, qui est la plus employée, est l'utilisation du couplage d'une technique chromatographique. D'une manière générale la Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) permettant l'individualisation des constituants, avec une technique spectroscopique: la Spectrométrie de Masse (SM) et/ou la spectrométrie Infra-Rouge à Transformée de Fourier (IRTF), cette dernière identifie des constituants par comparaison des données spectrales avec celles des produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

Le présent travail s'intègre à ce large domaine de recherche. Il contribue au développement des applications quantitatives de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier et offre un moyen d'analyse simple rapide en utilisant un appareil disponible dans la quasi-totalité des laboratoires.

L'objectif de ce travail est de proposer une méthode analytique pour le dosage quantitatif d'un produit majoritaire dans l'extrait d'une plante médicinale et aromatique dilué directement dans le solvant, sans aucun traitement préalable en utilisant une bande spécifique dans la zone «des empreintes digitales» comprise entre 1000 et 1500 cm^{-1} . Elle a été également appliquée en dosage d'un produit minoritaire en faisant appel à l'enrichissement par addition standard.

Le mémoire comprend trois chapitres :

–Le premier chapitre comporte une synthèse bibliographique portant sur l'étude chimique des plantes aromatiques et médicinales étudiées, les procédés d'extraction et de préparation des huiles essentielles et les différentes techniques d'analyse utilisées.

–Le deuxième chapitre est consacré à la préparation de l'huile essentielle de cumin et son analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

– Le dernier chapitre concerne la détermination quantitative par spectrométrie IRTF de cuminaldéhyde et l'ansaldéhyde dans l'extrait de cumin et l'huile essentielle d'anis vert, respectivement.

La conclusion générale et la bibliographie terminent ce mémoire.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1 Introduction

Les plantes sont depuis toujours une source essentielle de médicament. Aujourd'hui encore une majorité de la population mondiale, plus particulièrement dans les pays en voie de développement, se soigne uniquement avec des remèdes traditionnels à base de plantes. De l'aspirine au Taxol, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites. Cette source semble inépuisable puisque seule une petite partie des 400.000 espèces végétales connues ont été investiguées sur les plans phytochimique et pharmaceutique, et chaque espèce peut contenir jusqu'à plusieurs dizaines à centaines de constituants différents [1].

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit nature, soit en préparation galénique, soit encore sous forme de principes actifs, comme matière pour l'obtention de médicaments [2,3].

Les épices et les herbes aromatiques sont des produits d'origine végétale utilisée dans l'alimentation. Elles sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table et n'ont aucune valeur nutritionnelle. La terminologie utilisée pour classer ces plantes

aromatiques est parfois assez confuse ; ainsi, l'oignon peut être considéré comme un aromate ou un légume, la moutarde et le raifort comme des condiments ou des aromates. Définir avec précision les concepts d'épices, d'aromates, ou de condiments n'est pas évident. Les définitions dépendent en fait de l'angle sous lequel on regarde ces produits, c'est-à-dire essentiellement de leurs utilisations [4].

Des associations plus larges peuvent être créées selon les fonctions chimiques des substances aromatisantes. On parle d'épices à par exemple :

-fonctions phénols et dérivées (badiane, anis vert, fenouil, basilic, estragon, thym, origan, feuilles de cannellier, clou de girofle, piment vrai),

-fonctions aldéhyde aromatique (cannelle, cumin, vanille) [5].

Depuis la plus haute Antiquité, l'homme utilise des colorants, des parfums et des arômes à des fins alimentaires, décoratives ou cosmétiques. Ceux-ci ont d'abord été extraits de produits naturels, d'origines animale ou végétale. Parmi les substances ainsi extraites, les huiles essentielles.

I.2 Huiles essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes. Seuls les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire n'est pas trop élevée, y sont rencontrés soit, les

monoterpènes (myrcène, α -pinène, γ -terpinène, cuminaldéhyde, etc) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -bisabolène, etc), et les composés aromatiques (anisaldéhyde) [6,7].

I.2.1 Terpènes

Les terpènes sont des composés issus du couplage de plusieurs unités "isopréniques" (C_5H_8) (figure I.1), soit deux unités pour les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$), trois unités pour les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$), quatre unités pour les diterpènes, six unités pour les triterpènes et huit unités pour les tétraterpènes. Ils ont la même origine métabolique. Ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques des huiles essentielles [8–10].

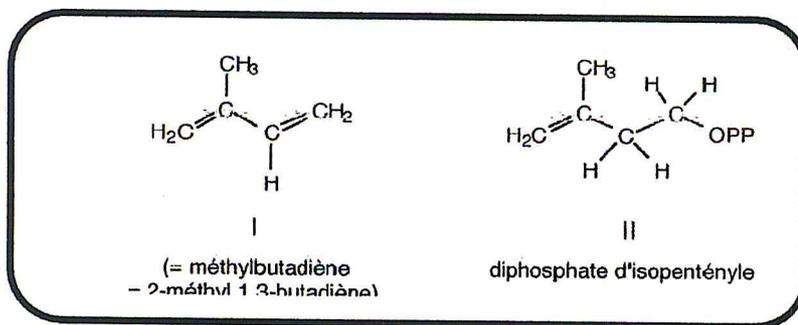


Figure I.1 : Molécules d'isoprène [11, 12]

On peut obtenir les terpènes par Condensation des unités isopréniques, à partir du diphosphate d'isopentényle (IPP) comme le montre la figure I.2.

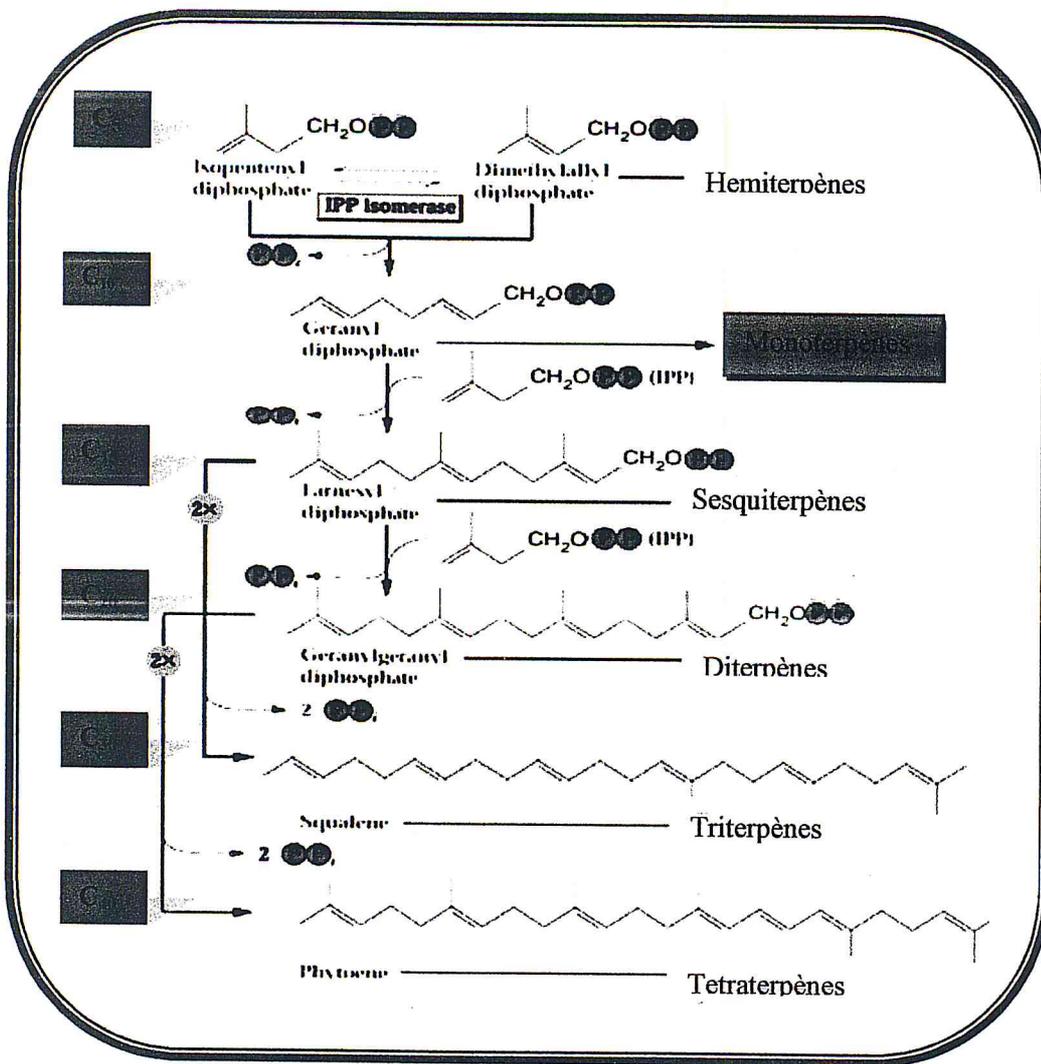


Figure 1.2 : Synthèse de différents types des terpènes

I.2.1.1 Monoterpènes

Constituants les plus simples de la série des terpènes, ces composés constituent souvent avec les sesquiterpènes et les diterpènes, la plus grande partie des huiles essentielles, c'est leur point d'ébullition peu élevé qui détermine le caractère volatil de ces composés. Ils sont

largement distribués chez les végétaux supérieurs et existent à l'état halogéné, chez les huiles essentielles des lamiales, Asterales... [1].

Les monoterpènes comportent 10 atomes de carbone, et sont issus des couplages de deux unités isopréniques " tête à queue".

Ils sont répartis selon la figure I.3.

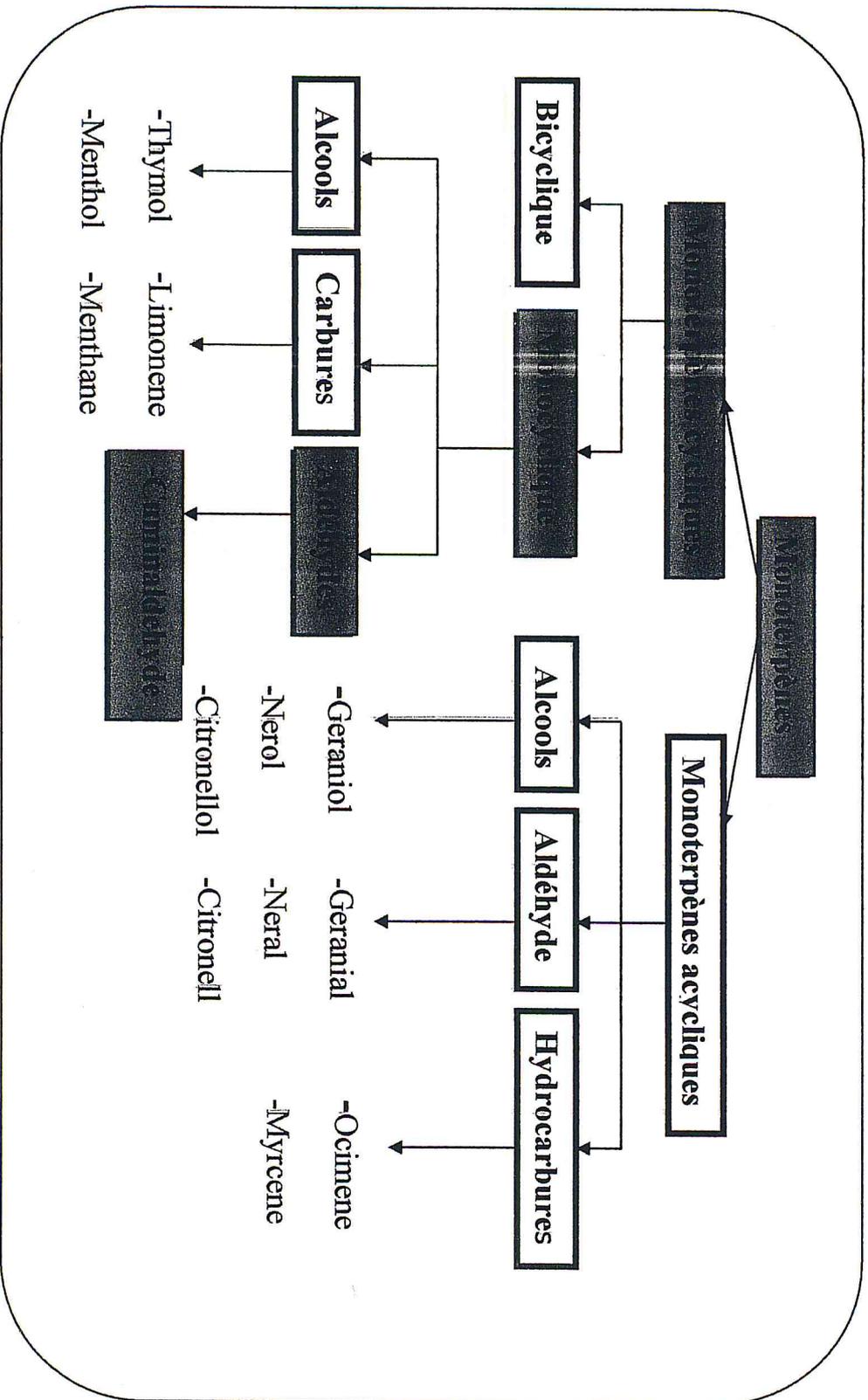


Figure I.3 : Classement des monoterpènes [1]

I.2.2 Composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrée est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, qui empruntent une voie biosynthétique différente de celle des terpènes [7]. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole, et bien d'autres [13]. Les dérivés du phénylpropane sont moins abondants que les terpénoïdes, ce sont des arènes issues d'une voie métabolique secondaire dite de l'acide shikimique lui-même intermédiaire de la synthèse de la lignine à partir du phénylpropane.

Les composés sont néanmoins importants sur le plan qualitatif et quantitatif chez certaines espèces. Par exemple, le trans-anéthole qui est la molécule responsable en grande partie de l'arôme d'anis, constitue environ 80% de l'huile essentielle de fenouil (1-3% d'essence), et d'anis vrai (3% d'essence). Les dérivés phénylpropanoïques et les terpénoïdes sont associés en nombre et en proportions très variables de telle sorte que le produit est hétérogène et complexe sur le plan chimique. Ils sont biosynthétisés au sein des mêmes organes sécréteurs où ils forment l'essence naturelle (figure I.4) [14].

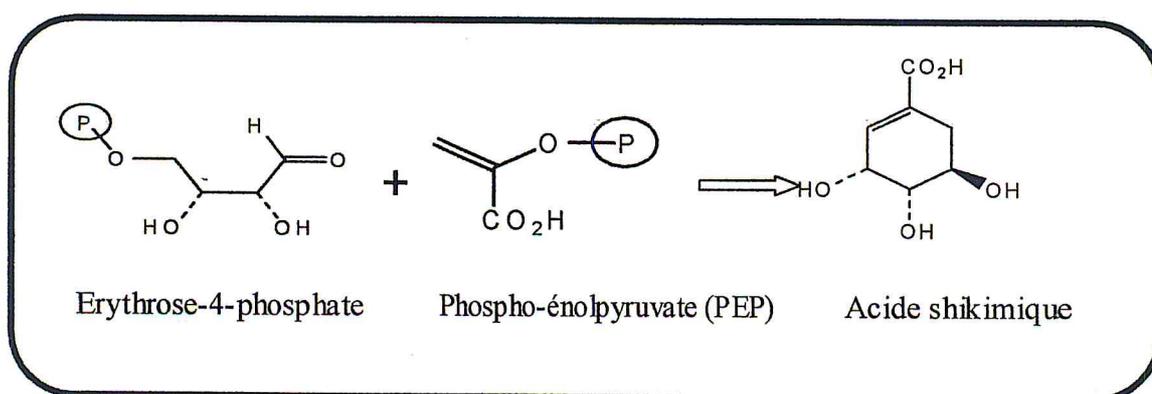


Figure I.4 : La voie de synthèse de l'acide shikimique.

-A partir de l'acide shikimique on peut obtenir différents composés phénoliques :

● Acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque

Les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque sont très communs, aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'ester ou d'hétéroside.

On connaît également les aldéhydes correspondants à ces acides qui sont la vanilline, l'anisaldéhyde

I.3 Espèces étudiées

I.3.1 Cumin (Kemoun)

Systematique [15]

- ❖ Nom botanique : *Cuminum cyminum* Linné
- ❖ Noms communs : cumin, cumin blanc, cumin de Maroc, faux anis
- ❖ Classe : Angiospermes dicotylédones
- ❖ Ordre : Ombellales
- ❖ Famille : Apiaceae (Ombellifères)
- ❖ Genre : *cyminum*
- ❖ Partie utilisée : la graine

Origine

Originaire du désert de Kyzyl Koum sur les bords de l'Amou-Daria et du Syr-Daria dans le Turkestan, le cumin (en anglais : cumin) est surtout cultivé en Iran, Inde, Syrie, Turquie, Indonésie, Maroc, Egypte ainsi que dans le sud de l'Europe, en Sicile, à Malte, et à Chypre. On le trouve en France dans le Var et le Vaucluse [5]. (L'origine de cumin utilisé est l'Egypte)

Description

Plante annuelle aux tiges hautes de 25 à 30 cm, aux fleurs blanches ou rougeâtres groupées en ombelles et aux feuilles découpées en lanières, le cumin rappelle le carvi par son allure générale. Ses fruits, qui constituent l'aromate proprement dit, sont petits, striés et hérissés de poils [5].

Utilisation

Depuis la plus haute antiquité, le cumin a été employé à des fins médicinales. Les Egyptiens en plaçaient dans les tombeaux des pharaons. Le cumin est reconnu pour ses vertus apéritives, qui permettent de régulariser la sécrétion des sucs stomacaux et d'apaiser les ballonnements. On lui attribue aussi des propriétés

thérapeutiques, antispasmodiques, stomachiques et carminatives. Le fruit entier ou réduit en poudre est employé comme épice, notamment dans les cuisines indienne, indonésienne, sud-européenne, nord-américaine. Le cumin entre dans les assaisonnements pour légumes et dans l'aromatisation du pain. Dans certains pays, notamment en Hollande, au Danemark et en Alsace, on en saupoudre les fromages pour enrichir la saveur [5].

Huile essentielle de cumin

L'odeur du cumin est tenace, plutôt désagréable ; son goût est pimenté, piquant, âcre, légèrement amer. La poudre de cumin garde ses propriétés pendant environ douze mois. Les graines de cumin contiennent des substances amères et jusqu'à 3% d'une huile essentielle jaune, particulièrement riche en composés aldéhydiques : cuminaldéhyde (32%), p-menthadiène-1, 3 al-7 (13.0%) et p-menthadiène 1,4 al 7 (0.8%) qui possèdent l'arôme typique du cumin [5]. Cette composition dépend de plusieurs facteurs, tels que la partie de plante utilisée, le temps de récolte, la méthode d'extraction, l'origine géographique, le type à cultiver et les conditions de stockage [16]. L'huile essentielle de cumin est riche en cuminaldéhyde (figure I.5).

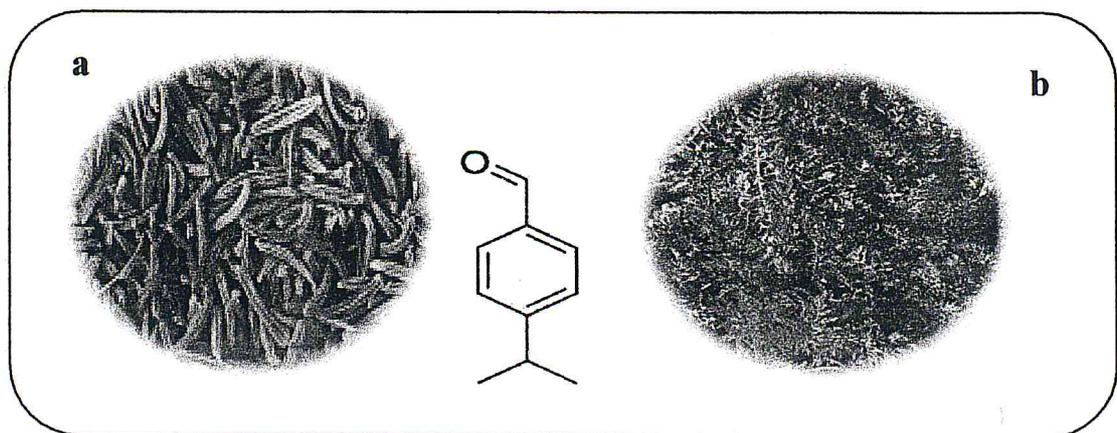


Figure 1.5 : Grains de cumin a), et plante du cumin b)

Cuminaldéhyde

Le cuminaldéhyde ou 4-isopropylbenzaldéhyde est un composé organique aromatique de formule $C_{10}H_{12}O$, de la famille des aldéhydes monoterpéniques. Il est constitué d'une molécule de benzaldéhyde substituée par un groupe isopropyle en position para. Son odeur agréable fait qu'il est utilisé en parfumerie ainsi que pour la préparation d'autres produits cosmétiques. Le cuminaldéhyde est un composant des huiles essentielles d'eucalyptus, de cannelle et de cumin. Il peut être préparé par réduction du chlorure de 4-isopropylbenzoyle ou par formylation du cumène. Le cuminaldéhyde est un liquide huileux, incolore à l'odeur boisée. Il a une température d'ébullition qui varie de 235 à 236°C, il est peu miscible à l'eau, sa masse volumique est de 0.977 g.cm^{-3} , il est soluble dans le cyclohexane, son point d'éclair est de 93°C.

On peut citer aussi que le cuminaldéhyde est le composé biologiquement actif de l'huile de graines de cumin (*Cuminum cyminum*). Cette substance avait un effet inhibiteur sur les enzymes aldoseréductase et alpha-glucosidase, menant la voie à une utilisation potentielle comme antidiabétique [17].

Le cuminaldéhyde a fait l'objet de travaux divers, l'huile essentielle de cumin (*Cuminum cyminum*) obtenue par hydrodistillation a été analysée par Chromatographie en phase Gazeuse (CG), et par Chromatographie en phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse (CG/SM), le cuminaldéhyde a été le produit majoritaire (30.2%). Cette huile essentielle possède une activité antibactérienne importante [18].

Le cuminaldéhyde a été utilisé dans un complexe de thiosemicarbazone pour une étude du clivage de l'ADN [19].

Dans une autre étude comparative de la composition chimique de l'huile essentielle de cumin noir d'Iran obtenue par extraction par un fluide supercritique (EFS) avec celle obtenue par Hydrodistillation (HD), le taux de cuminaldéhyde a été de 11.5%, et de 12.7%, respectivement [20].

Une autre étude biologique de quelques monoterpènes a été effectuée. Ce travail a montré que le cuminaldéhyde est un inhibiteur utilisé contre *Culex pipens* donc il peut être utilisé dans la recherche de nouveaux insecticides naturels [21].

Dans le travail de Quinquin Chen, Le cuminaldéhyde a été purifié et isolé de l'huile essentielle de cumin par une technique semi préparative la chromatographie à contre courant à haute performance (CCCHP). En utilisant un système de solvants de deux phases composé de n-hexane/methanol/eau, le cuminaldéhyde purifié a été de 95.42% [22]. En réalisant l'hydrodistillation du cumin de Tunisie, l'huile essentielle obtenue a été caractérisée par CG et CG/SM, 21 composés ont été identifiés. Le cuminaldéhyde a été le produit majoritaire (39.48%). Cette huile possède une activité antioxydante et antifongique [23].

L'étude de l'effet d'enzymes sur l'extraction de l'huile essentielle de cumin montre que la composition de cette dernière n'est pas influencée, au contraire les enzymes facilitent le procédé d'extraction [24].

L'huile essentielle obtenue du cumin par hydrodistillation en utilisant l'appareil de Clevenger en contact avec des micro-ondes, a été analysée par CG et CG/SM. Les résultats d'analyse montrent que le processus utilisant les micro-ondes a un effet bénéfique sur la composition chimique des produits volatils, tous les aldéhydes de l'huile de cumin sont caractérisés [25]. Le travail portant sur l'extraction de l'huile essentielle de *Carum carvi.L* par hydrodistillation et la caractérisation des composés volatiles isolés par CG et CG/SM, montre que le cuminaldéhyde est le produit majoritaire (22.08%). Des tests biologiques montrent que cette huile possède une activité antitoxigénique [26].

I.3.2 Anis vert

Systematique [5]

- ❖ Nom botanique : *Pimpinella anisum* Linné
- ❖ Classe : Magnoliopsida
- ❖ Ordre : Umbellales
- ❖ Famille : Apiaceae (Umbellifères)
- ❖ Genre : *Pimpinella*
- ❖ Partie utilisée : la graine

Origine

Plante annuelle, l'anis vert (en anglais : aniseed), dont le nom dérive du grec anison, est originaire d'Asie Mineure. Il est cultivé depuis des temps immémoriaux dans le Bassin méditerranéen. Les principaux pays producteurs sont l'Espagne, la France, l'Allemagne, la Bulgarie, la Turquie, Chypre, la Tunisie, l'Inde, la Chine et le Mexique [5]. (L'origine d'anis vert utilisé est l'Egypte)

Description

Plante herbacée de 20 à 60 cm de haut, à odeur aromatique, les fleurs d'un blanc jaunâtre, sont disposées en ombelles. Le fruit est un akène double (figure I.6). Toutes les parties de la plante dégagent un parfum très reconnaissable : l'odeur typique d'anis [5].

Utilisation

L'huile essentielle d'anis a des propriétés toniques et apéritives. Son indication principale se retrouve au niveau de la sphère digestive. De part ses propriétés antispasmodiques, elle sera indiquée pour soulager les dyspepsies, l'aérophagie, les colites spasmodiques. L'anis doit être conservé dans des boîtes hermétiques, à l'abri de la lumière. Une fois moulu, il perd en quelques jours son parfum. Au Moyen Age, il était couramment utilisé comme contrepoison [5].

Huile essentielle d'anis vert

Les fruits donnent 2 à 3% d'une huile essentielle jaune pâle, riche en trans-anéthole (85 à 90%), il peut constituer des sesquiterpènes (alpha hymachalène), alcool terpénique (anisol), autres phénols (étragole de 0.5 à 5%), aldéhydes (aldéhyde anisique de 0.76%). Cette huile se solidifie à basse température et possède un point de fusion situé entre 15 et 19°C [5].

D'après la composition de l'huile essentielle de l'anis vert, on constate qu'il est pauvre en anisaldéhyde. Pour cette raison on a choisi cette matière végétale pour effectuer une étude quantitative.

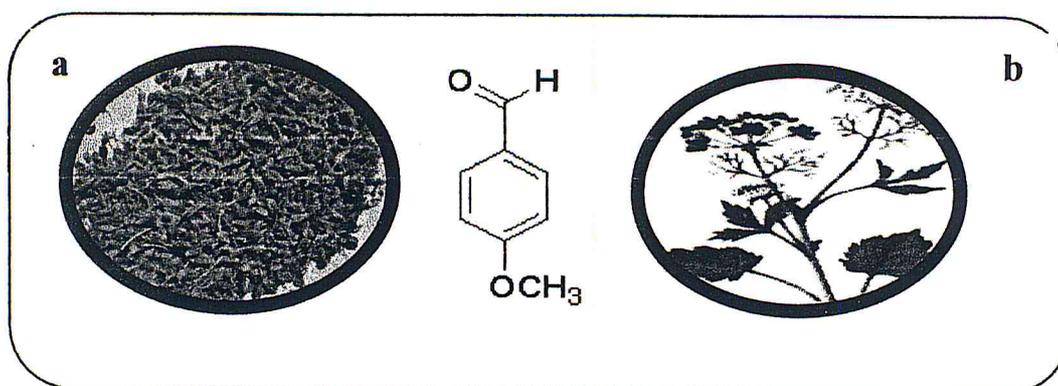


Figure 1.6 : Grains d'anis vert a), et plante d'anis vert b)

Anisaldéhyde

L'anisaldéhyde ou 4-méthoxybenzaldéhyde est un composé aromatique de la famille des aldéhydes, de formule brute $C_8H_8O_2$. C'est un liquide huileux, incolore ou jaunâtre à odeur d'aubépine, il est utilisé dans la fabrication des produits organiques et des parfums, c'est un analyte standard. On peut trouver l'anisaldéhyde dans les huiles essentielles d'anis vert, de badiane et d'aneth. Il peut être préparé par la synthèse de l'acide benzoïque dérivé phénolique. L'anisaldéhyde est incompatible avec ces substances : les agents oxydants forts, les acides forts et les bases fortes. Il porte les propriétés physiques suivantes : la densité est de 1.19 g.ml^{-1} à 25°C , l'indice de réfraction est de 1.57, le point d'ébullition est 248°C , ainsi il est insoluble dans l'eau [27, 28]. L'anisaldéhyde est utilisé dans la synthèse des composés organiques pharmaceutiques et agroalimentaires, il est aussi un intermédiaire important dans le processus des parfums et des saveurs [29]. En citant quelques travaux réalisés, l'anisaldéhyde a été utilisé comme un échantillon standard pour évaluer le système d'extraction en phase solide couplée à la chromatographie liquide à haute performance (EPS/CLHP) [30].

L'anisaldéhyde a été utilisé comme un intermédiaire dans une réaction de condensation pour former des chromogènes colorés à partir du secnidazole ou 1-(2-méthyl-5-nitroimidazole-1-yl) propan-2-ol [31].

Le travail de Benjaram M.R et son équipe a montré que l'oxydation de 4-méthylanisole à l'aide des catalyseurs $V_2O_5/Al_2O_3-TiO_3$ donne l'anisaldéhyde et l'acide anisique [32].

Le basidiomycete *Pleurotus Ostreatus* peut produire des flaveurs dans un milieu liquide, l'identification de ce dernier par CG/SM a montré que le produit majoritaire est l'anisaldéhyde [33].

I.4 Procédés d'extraction

Les essences sont extraites des matières végétales par différentes méthodes, le choix d'une méthode par rapport à une autre est lié à plusieurs paramètres tels que la nature de la matière végétale et sa fragilité au contact de l'eau et à la variation de la température. Généralement les méthodes utilisées sont l'hydrodistillation et l'extraction par solvant volatil.

I.4.1 Hydrodistillation

La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est de loin la plus utilisée à l'heure actuelle. Cette méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau se distillent simultanément à une température inférieure à 100 °C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures [34].

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [14]. Cette technique a été utilisée dans de nombreux travaux. Dans une étude comparative de la composition chimique de l'huile essentielle de *Ferula assafoetida* a utilisé l'hydrodistillation (HD) et l'extraction par fluide supercritique (EFS) ont été utilisées [35].

Une autre étude comparative entre l'hydrodistillation traditionnelle et l'hydrodistillation assistée par micro-ondes a été effectuée dans le cas de l'extraction de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris L.* [36].

Une technique élaborée qui consiste à utiliser l'hydrodistillation et la micro extraction par solvant a été sollicitée pour l'extraction de l'huile essentielle de la lavande *lavandula augustifolia mill.* L'huile ainsi obtenue a été soumise à l'analyse par chromatographie gazeuse [37].

L'hydrodistillation a été utilisée en combinaison avec la micro extraction en phase solide à haute espèce MEPS-HS pour analyser le thymol et le carvacrol dans le thym (*Thymus transcaspicus*) [38].

Une étude comparative de l'hydrodistillation et l'extraction assistée aux ultrasons (ESU) en utilisant le mélange de solvants organiques pentane/ether : (1/2) a été réalisée pour l'isolement des composés volatils de *Robinia pseudoacacia L.* et *Castanea sativa.L* [39].

Au laboratoire le système équipé d'une cohobe qui est généralement, utilisée pour l'extraction des huiles essentielles et qui est en accord avec la Pharmacopée Européenne est le Clevenger [15].

I.4.2 Extraction par solvant organique

L'extraction est un procédé chimique qui permet de séparer un composé d'un mélange ou d'une solution. Le meilleur solvant à utiliser est celui dans lequel le composé à extraire est très soluble. Une succession d'opérations peut être nécessaire avant que le composé ne puisse être isolé par distillation ou par évaporation du solvant [15]. L'extraction par solvant organique volatil reste la méthode la plus pratiquée. Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone [40].

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement [41].

I.5 Méthodes d'analyse

Les techniques de choix utilisées dans l'analyse des huiles essentielles et extraits sont les méthodes chromatographiques, utilisées pour l'analyse qualitative : la chromatographie sur couche mince (CCM), et d'autres utilisées pour l'analyse quantitative : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).

La spectrométrie IRTF a été utilisée souvent pour l'analyse qualitative.

I.5.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) est une méthode basée principalement sur les phénomènes d'adsorption, elle s'apparente étroitement à la chromatographie sur colonne au niveau des phases impliquées et du mécanisme mis en œuvre pour la séparation [1]. Elle peut être sollicitée pour des analyses qualitatives ou quantitatives.

I.5.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Cette technique d'analyse est très utilisée pour la séparation des constituants des mélanges complexes, elle permet d'obtenir des informations concernant la structure de la plupart des molécules. En analyse CG/SM, les molécules entraînées dans le flux gazeux, à la sortie de la colonne arrivent directement dans la chambre d'ionisation, maintenue sous-vide. L'ionisation se fait par impact électronique, sous une tension donnée. La fragmentation de la molécule, permet d'obtenir un spectre de masse. L'identification peut être réalisée par comparaison des fragments (m/z) formés avec ceux des spectres des banques de données. La fiabilité de la reconnaissance, est principalement donnée par l'indice de qualité, en pourcentage d'adéquation du spectre du composé inconnu, par rapport au spectre de la banque de données. Le résultat peut être considéré comme correct, pour un indice supérieur à 90% [42].

I.5.3 Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier

La spectrophotométrie infrarouge est un des outils les plus puissants dont dispose le chimiste pour identifier les composés organiques et inorganiques purs, car, à l'exception de quelques molécules homonucléaires telles que O₂, N₂ et Cl₂, toutes les espèces moléculaires absorbent dans l'infrarouge. De plus, à l'exception des molécules chirales à l'état cristallin, chaque espèce moléculaire a un spectre d'absorption infrarouge unique. Dès lors, la concordance exacte entre le spectre d'un composé de structure connue et celui d'un analyte permet d'identifier ce dernier sans aucun doute possible [43]. La région infrarouge occupe une partie très importante du spectre électromagnétique entre 12500 et 10 cm⁻¹, le domaine qui représente le plus grand intérêt pour le chimiste, connu par le domaine de l'infrarouge moyen, est très limité et s'étend de 4000 cm⁻¹ à 400 cm⁻¹. Un spectre infrarouge est caractérisé par des pics d'absorption étroits, très rapprochés, qui résultent des interactions entre les différents niveaux quantiques de vibration. Le nombre de modes de vibrations d'une molécule dépend du nombre d'atomes, est donc du nombre de liaisons qu'elle contient, (3n-6) dans le cas d'une molécule non linéaire de (n-atome), où même pour une molécule simple le nombre de vibrations possible est important.

La spectrométrie IRTF est une spectrométrie multiplex. La lumière incidente est détectée globalement après avoir été codée par un interféromètre qui remplace le monochromateur, et après avoir été passée à travers l'échantillon [44].

L'intensité du signal $I(\delta)$ est mesurée en fonction du retard δ , ce qui génère un interférogramme. Les spectromètres à transformée de Fourier pour l'infrarouge ont comme avantage une sensibilité, une résolution et une vitesse d'acquisition des données particulièrement élevées. Toutes les longueurs d'ondes sont détectées et mesurées simultanément.

I.5.3.1 Application qualitative de la spectrométrie infrarouge

L'analyse qualitative se réalise généralement en deux étapes : (1) identification des groupements fonctionnels de la substance, il existe des atlas de spectres qui peuvent être consultés à cette fin [45], (2) confirmation de la structure moléculaire par comparaison de la totalité du spectre avec celui d'un composé connu. La concordance exacte entre le spectre d'un composé de structure connue et celui

d'une analyse permet d'identifier ce dernier sans aucun doute possible, du fait qu'il n'existe pas deux composés de structure différente qui ont le même spectre IR (on parle "d'empreinte digitale" du composé) [46].

I.5.3.2 Application quantitative de la spectrométrie infrarouge

Les études quantitatives sont basées sur l'utilisation de la loi de Beer-Lambert qui établit une relation entre les mesures d'absorbance et la concentration des espèces à déterminer. Des analyses quantitatives à $\pm 10\%$ sont relativement aisées à obtenir, pour des analyses plus précises ($< 1\%$ en solution) il est nécessaire d'établir une courbe d'étalonnage et de s'assurer que les spectres sont enregistrés dans des conditions optimales. Dans cette partie, trois modes de mesure peuvent être considérés : (1) mesure en mode statique (batch) où la cellule IR est, à chaque mesure, retirée de son compartiment pour son nettoyage ou son remplissage, (2) mesure en écoulement bloqué (stop flow) où les échantillons sont conservés dans des récipients distincts pendant toutes les opérations unitaires jusqu'au transfert vers le dispositif d'analyse (on utilise une pompe péristaltique pour remplir la cellule, on stoppe momentanément le flux, on obtient le spectre et on rétablit le flux pour laver la cellule avec le solvant ou la remplir avec une autre solution et ce, sans la déplacer), (3) en mode à flux continu (Flow Injection Analysis) où les diverses opérations unitaires de l'analyse s'effectuent pendant que l'échantillon circule du point d'injection jusqu'à l'unité de mesure. Généralement, la spectrométrie IRTF est utilisée pour l'analyse qualitative. La spectrométrie IRTF a été utilisée pour l'optimisation, la fréquence et l'intensité des bandes vibrationnelles de *p*-anisaldéhyde dans la région $400-4000\text{ cm}^{-1}$ [47]. Cependant, il y a peu de travaux qui ont utilisé la spectrométrie IRTF pour la détermination quantitative. Notre équipe de recherche a sollicitée la spectrométrie IRTF pour doser les stéroïdes dans les algues (rouges et brunes) [48-49].

Chapitre II

**Etude chimique de la composition de l'huile
essentielle de cumin par chromatographie en
phase gazeuse couplée à la spectrométrie de
masse (CG/SM)**

II.1 Introduction

Différentes études portées sur l'huile essentielle de cumin, montre que cette dernière a été souvent obtenue par hydrodistillation en utilisant le Clevenger [19]. Le CO₂ à l'état supercritique a été également utilisé à coté de l'hydrodistillation pour donner cette huile essentielle [21]. L'analyse de la composition de l'huile essentielle a été généralement réalisée par CG/SM [19, 24, 26, 27].

Dans ce chapitre on s'intéresse à donner la composition chimique de l'huile essentielle de cumin par CG/SM.

II.2 Partie expérimentale

II.2.1 Appareillage

II.2.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Les plaques CCM utilisées sont des feuilles de plastiques de dimensions 7×10 cm recouvertes de gel de silice Si 60 (Merck). L'élution est réalisée avec un mélange de solvants, acétate d'éthyle isoctane dans les proportions : 40 /60 :(v /v). La révélation est effectuée avec une lampe UV à 256 nm.

II.2.1.2 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

L'analyse est effectuée sur un chromatographe HP-6890 couplé à un spectromètre de masse HP-5972 (figure II.1), dans les conditions suivantes :

- Une colonne capillaire de type HP1 (polydiméthylesiloxane 100%), de longueur 30 m, d'un diamètre de 0.25 mm et une épaisseur du film de 0.25 µm.
- Un potentiel d'ionisation du spectromètre de masse égale à 70 eV.
- Le programme de température du four est : 90(10') à 210 (10') à raison de 3°/mn.
- Un gaz vecteur (helium) d'un débit de 0.3 ml.mn⁻¹
- Injection d'une quantité de 1 µl en mode Split : 1/90.

Les échantillons de l'huile essentielle sont dilués dans l'AcOEt à 1%.

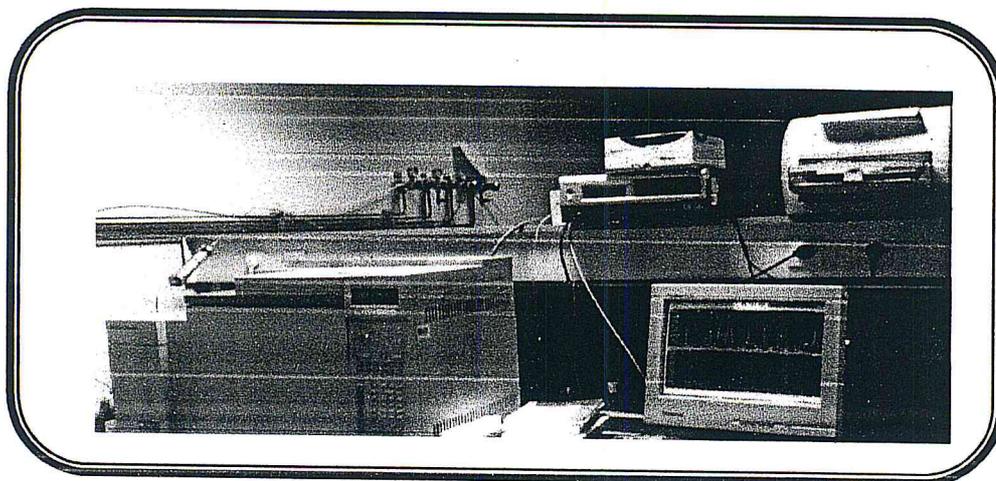


Figure II.1 : Equipement utilisé pour l'analyse CG/SM

II.2.2 Réactifs

On a utilisé le dichlorométhane stabilisé par l'amylène (Panreac, Espagne), pour l'analyse par IRTF, l'anisaldéhyde, le cuminaldéhyde, l'acétate d'éthyle et l'isooctane (Carlo Erba, Italie) pour la CCM. Tous les réactifs utilisés sont de grade analytique.

II.3 Procédure générale

II.3.1 Préparation de l'huile essentielle de cumin

II.3.1.1 Hydrodistillation

L'huile essentielle est obtenue en utilisant un montage d'hydrodistillation à l'échelle laboratoire (figure II.2) , composé d'un ballon rempli au 2/3 eau et contenant une masse de 150.5g de cumin en poudre, ce ballon est porté à ébullition, les vapeurs sont condensées au niveau du réfrigérant pour donner le distillat.

Le mélange hétéro-azéotrope est récupéré dans un bécher. Cette opération prend une durée de 3 h.

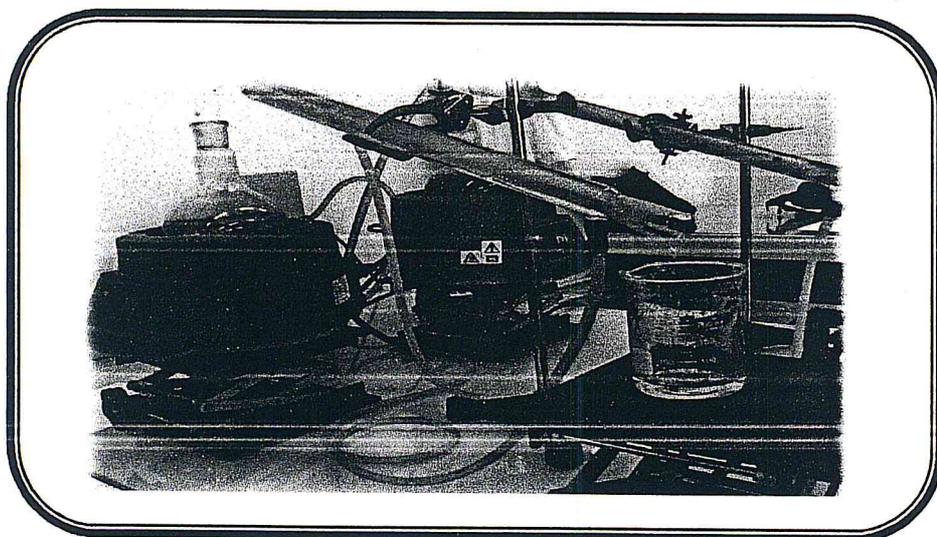


Figure II.2 : Montage de l'hydrodistillation

II.3.1.2 Extraction liquide-liquide

Le mélange eau - huile essentielle est soumis à une extraction liquide-liquide avec de l'éther diéthylique. On obtient deux phases, une phase organique contenant l'huile essentielle dans l'éther et une phase aqueuse, on refait l'extraction liquide-liquide pour la phase aqueuse plusieurs fois afin de récupérer le maximum d'huile essentielle soluble dans l'eau. On mélange toutes les phases organiques en une seule phase qui est passée à travers du Na_2SO_4 pour éliminer toutes traces d'eau. La phase organique filtrée est distillée à la pression atmosphérique afin d'éliminer l'éther. Le montage de l'extraction liquide-liquide est montré sur la figure II.3. La masse récupérée de l'huile essentielle est de 1.94 g, le rendement de cette extraction est de 0.97%. Rappelant que le rendement est calculé en utilisant la formule suivante :

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

R : Rendement de l'huile essentielle en %

m_{HE} : masse de l'huile essentielle en gramme (g)

m_{MV} : masse de la matière végétale en gramme

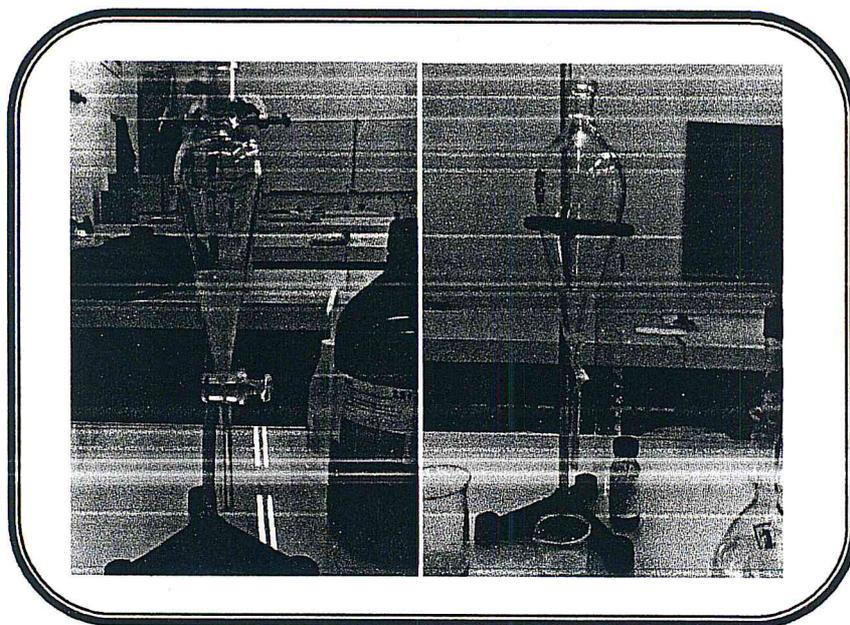


Figure II.3: Extraction liquide -liquide

II.4 Détermination de cuminaldéhyde par CCM

Une étude chromatographique préliminaire par CCM a été effectuée, pour confirmer l'existence de l'analyte cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin. L'analyse de la plaque CCM dans les conditions citées dans le paragraphe II.1.2.1.2 montre l'apparition de taches jaunes pour l'extrait et l'étalon de cuminaldéhyde au même niveau avec un $R_f = 0.7$ (figure II.4)

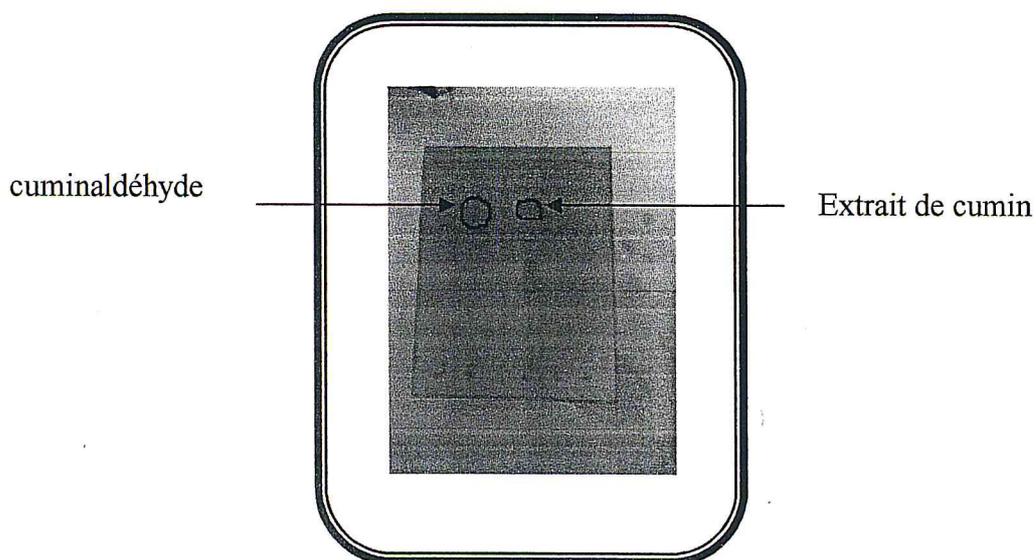


Figure II.4 : Purification du cuminaldéhyde à partir de l'extrait de cumin par CCM

II.5 Etude analytique de l'huile essentielle de cumin par CG/SM

II.5.1 Identification des produits de l'huile essentielle de cumin

L'analyse par CG/SM dans les conditions citées dans le paragraphe II.2.1.2 a permis l'identification des composés regroupés dans le tableau II.1, en se basant sur les banques de données spectrales de l'appareil (NBS 75k.1, et Wiley 7n.1) ainsi que sur les données de la littérature concernant les produits isolés.

L'identification pour une base spectrale consiste à comparer le spectre de masse du produit avec celui du même produit de cette base, cette comparaison est donnée avec un certain taux de similitude. Dans notre cas tous les produits ont été identifiés à un taux de similitude de plus de 90%.

Rappelons que NBS 75k est une banque comprenant les spectres de masse de 7500 molécules, celle de Wiley 7n comprend 250000 molécules. Les produits identifiés à partir de la figure II.5 et qui représente le profil chromatographique de l'huile essentielle de cumin sont présentés dans le tableau II.1

Tableau II.1 Composition chimique de l'huile essentielle de cumin

Ordre d'élution	T _R (mn)	Nom	Formule	Teneur (%)
1	4.25	β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	1.125
2	4.94	O-cymene	C ₁₀ H ₁₄	1.901
3	5.14	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	0.983
4	5.74	γ-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	0.440
5	6.56	L-linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.135
6	6.57	α-terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	0.005
7	7.34	Cyclohexane, 1,3dimethyl2methylene	C ₉ H ₁₆	0.020
8	7.80	1,4-hexadiene, 4 methyl	C ₇ H ₁₂	0.352
9	8.5	3-penten-2-ol	C ₅ H ₁₀ O	0.089
10	8.11	Acide 3 (5',5'-dimethyltetrahydrofuran2'-yl) 2-methylpropanoïque	C ₁₀ H ₁₈ O ₃	0.059
11	8.91	Terpin-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.014
12	9.23	4 (cyclohex-1'-enyl) but2en1ol	C ₁₀ H ₁₆ O	1.497
13	10.93	Cuminaldéhyde	C ₁₀ H ₁₂ O	44.828
14	11.76	Propanal2-methyl-3-phenyl	C ₁₀ H ₁₂ O	0.322
15	11.95	Phellandral	C ₁₀ H ₁₆ O	0.750
16	12.30	2-carene-10-al	C ₁₀ H ₁₄ O	10.246
17	12.54	2,2-dimethyl-1-phenyl-1-propanal	C ₁₁ H ₁₆ O	13.937
18	12.97	3,4 et 2,4 diméthylthiophene	C ₆ H ₈ S	1.781
19	13.08	4-hydroxy-3-methylacetophenone	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.816
20	13.32	Methylpentachlorostearate	C ₁₉ H ₃₃ Cl ₅ O ₂	0.419
21	13.58	2,4 cyclopentadiene-1-ethanamine	C ₇ H ₁₁ N	0.374
22	13.65	2-methyl-1-phenyl-2-propen-1-ol	C ₁₀ H ₁₂ O	<0.001
23	13.80	α-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	0.353

24	14.07	Benzene, 1 (1-hydroxyethyl) 4isobutyl	C ₁₂ H ₁₈ O	1.146
25	14.46	3-penten-2-one, 3 (2-furanyl)	C ₉ H ₁₀ O ₂	<0.001
26	14.65	Bicyclo(4,1)heptane,3,7,7-trimethyl[1,S(1 α ,3 α ,6 α)	C ₁₀ H ₁₈	0.523
27	14.85	Acide benzene acetique, α ethyl	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.120
28	15.75	Ether methyl 2[Z] hexenyl	C ₇ H ₁₄ O	0.363
29	15.88	Cis, 2methyl1,3cyclooctadiene	C ₉ H ₁₄	0.318
30	16.21	3,3-dimethyl-6-methylenecyclohexene	C ₉ H ₁₄	7.128
31	17.18	Tricyclo(3,2,1)octan-8-one,3,3-dimethyl(1 α ,2 α ,4 α ,5 α)	C ₁₀ H ₁₄ O	0.256
32	17.20	Allylidenecyclohexane	C ₉ H ₁₄	0.045
33	17.55	Oxepine,2,7 dimethyl	C ₈ H ₁₀ O	0.173
34	17.84	Iso-geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.153
35	18.57	Acide benzoique,4-(1-methylethyl)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	3.086
36	20.00	Trans-2-methyl-5(1-methylethenyl)6-oxaspiro(5,2)octa-2-ene	C ₁₁ H ₁₆ O	0.560
37	20.16	5-hepten-3-yn-2-one,6-methyl-5(1-methylethyl)	C ₁₁ H ₁₆ O	0.217
38	20.29	ρ -nitrostyrene	C ₈ H ₇ NO ₂	<0.001
39	20.50	ρ -mentha-1(7),4(8)-diene	C ₁₀ H ₁₆	0.287
40	20.67	4 [2, 6,6trimethylcyclohexa1,3dienyl) pent3en2-ol	C ₁₄ H ₂₂ O	0.338
41	20.88	9-isopropenyl-7,7,8trimethyl-4-oxatricyclo[6,1,0,0(3,5)]nonan-2-one	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	0.492
42	21.19	(2,6,6-trimethyl-3-oxo-cyclohex-1-en-1-yl)propa none	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	<0.001
43	21.02	Ethylamine,N-formyl-1-phenyl	C ₉ H ₁₁ NO	0.327
44	21.31	Benzenmethanol,4-(1,1-dimethylethyl)	C ₁₁ H ₁₆ O	0.207
45	21.83	Chloro-2-tricyclo(4,1,0,0(2,7)hept-1-yl)ethylene	C ₉ H ₁₁ Cl	0.042
46	22.15	N-(α -methylbenzyl)formamide	C ₉ H ₁₁ NO	0.021
47	22.50	Acide bromide myrtene	C ₁₀ H ₁₃ Br O	0.121
48	23.46	3,5-dimethylamphetamine	C ₁₁ H ₁₇ N	0.040
49	23.47	Cyclopropane,1,1-dichloro-2,2-dimethyl-3-(2-methylpropyl)	C ₉ H ₁₆ Cl ₂	0.075
50	23.71	(-) Oxide caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ O	0.319
51	24.12	6,6-dimethyl-7-methylene-bicyclo(3,2,2)nonane	C ₁₂ H ₂₀	0.081
52	24.37	3a(1H)azulenol,2,3,4,5,8,8a-hexahydro-6,8a-dimethyl-3(1-methylethyl)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.600
53	24.63	1-Hydroxymethyl-1-methyl-2-vinylcyclopentane	C ₉ H ₁₆ O	0.111
54	24.72	Bicyclo(5,1,1)non-1(8)ene	C ₉ H ₁₄	<0.001
55	24.97	(-)Elema-1,3,11(13)trien-12-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	<0.001
56	25.87	3-(2',2'-Dimethyl-6'-methylidenecyclohexyl)propyltoluenesulfonate	C ₁₉ H ₂₈ O ₃ S	0.076
57	25.81	1-Ethyl-3-nitrobenzene	C ₈ H ₉ NO ₂	0.066
58	26.46	Bicyclo[(8,1,0)undec-3-ine-2-ol	C ₁₁ H ₁₆ O	0.043
59	26.69	(-)-Curcuphenol	C ₁₅ H ₂₂ O	0.150
60	26.99	Trans-4-butyl-1-ethenyl-1-(phenylcarbonyloxy)cyclohexane	C ₁₉ H ₂₆ O ₂	0.050
61	27.25	1,5-Decadiyne	C ₁₀ H ₁₄	0.045

62	27.79	1-Dodecen-11-yne	C ₁₂ H ₂₀	0.076
63	27.88	1-(4'-phenyl)1,2-epoxycyclopentane	C ₁₀ H ₁₆ O	<0.001
64	28.68	3,3-Dimethyl-1-propéylpiperidine	C ₁₀ H ₂₁ N	0.005
65	28.75	Grasshopper ketone	C ₁₃ H ₂₀ O ₃	0.004
66	28.73	3-(2-methylenecyclohexyl)propanal	C ₁₀ H ₁₆ O	0.010
67	29.40	3-Hydroxy-6-(3'-isopropenyl-1'-cyclopropenyl)-3,6-dimethyl-2-heptanone	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	<0.001
68	29.57	1,3,6-Octatriene,3,7,dimethyl(Z)	C ₁₀ H ₁₆	0.019
69	30.00	Benzene,1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4methyl	C ₁₅ H ₂₂	<0.001
70	30.01	1-Dodecen-11-yne	C ₁₂ H ₂₀	<0.001

II.5.2 Résultats et discussion

L'examen du tableau montre que l'HE de cumin est riche en terpènes particulièrement sous forme de monoterpènes (64.89%), il s'agit notamment du β -pinene, o-cymene et terpin-4-ol, et le cuminaldéhyde qui est le produit majoritaire (44.82%). On peut noter la présence de composés oxygénés (19.15%) comme 2,2-dimethyl-1-phenyl-1-propanol et 3-penten-2-one ,3 (2-furanyl). La composition de l'HE révèle aussi la présence d'acides gras représentant (3.38%), il s'agit de l'acide benzoïque, 4 (1-methyl ethyl) et l'acide benzene acétique, α -ethyl. D'autres composés peuvent y exister représentent (10.37%), il reste presque 3% de composés inconnus. Différentes classes chimiques de l'huile essentielle sont représentées par la figure II.5

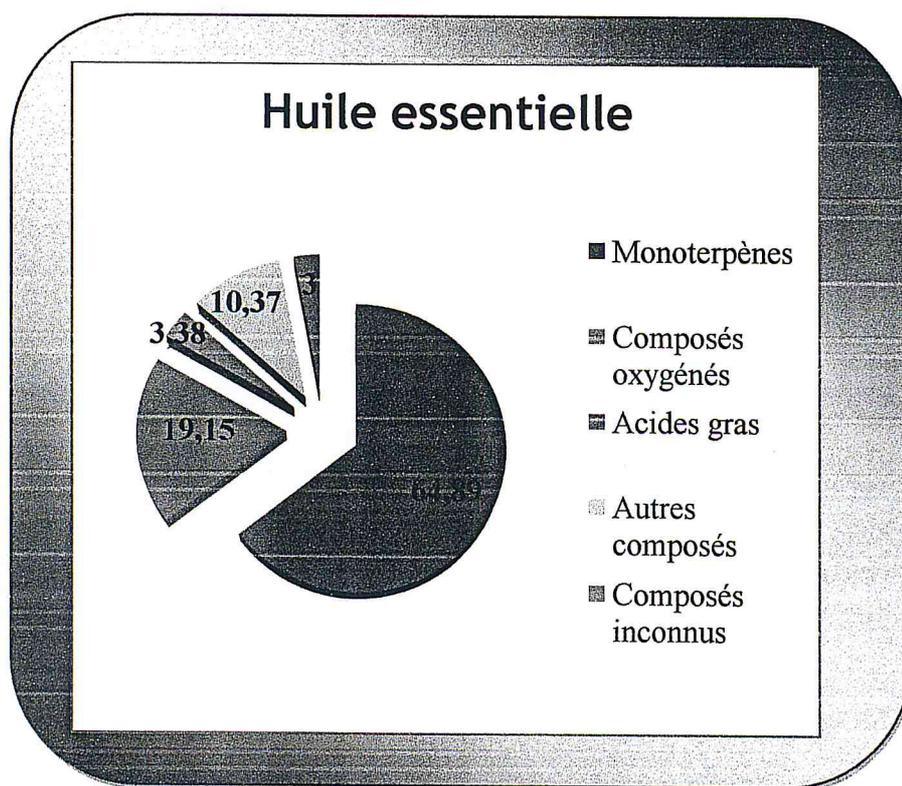


Figure II.5: Représentation de la composition chimique de l'huile essentielle de cumin

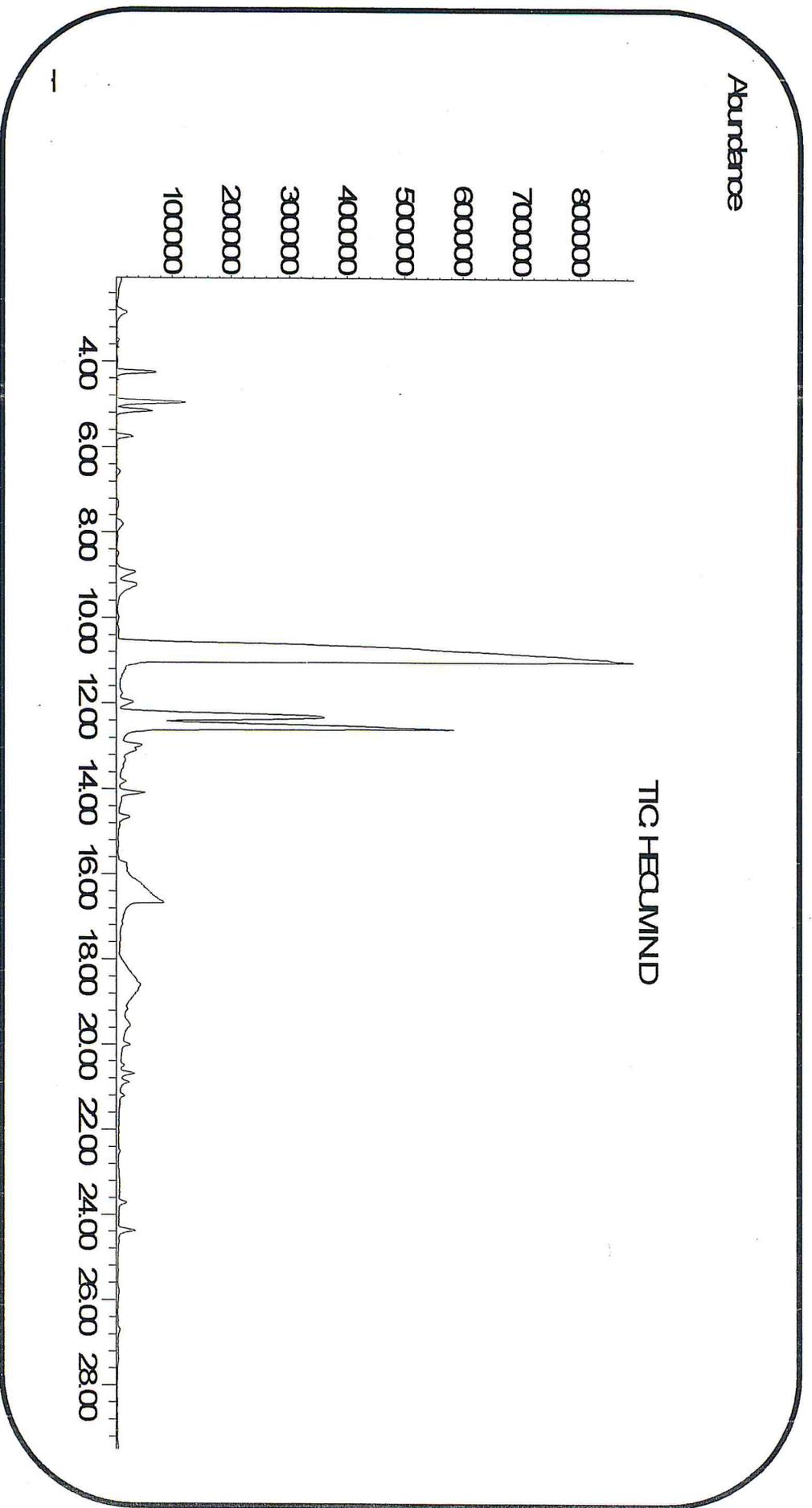


Figure II.6 Le profil chromatographique de l'huile essentielle de cummin

Le spectre de masse du composé majoritaire (cuminaldéhyde) est donné par la figure II.7

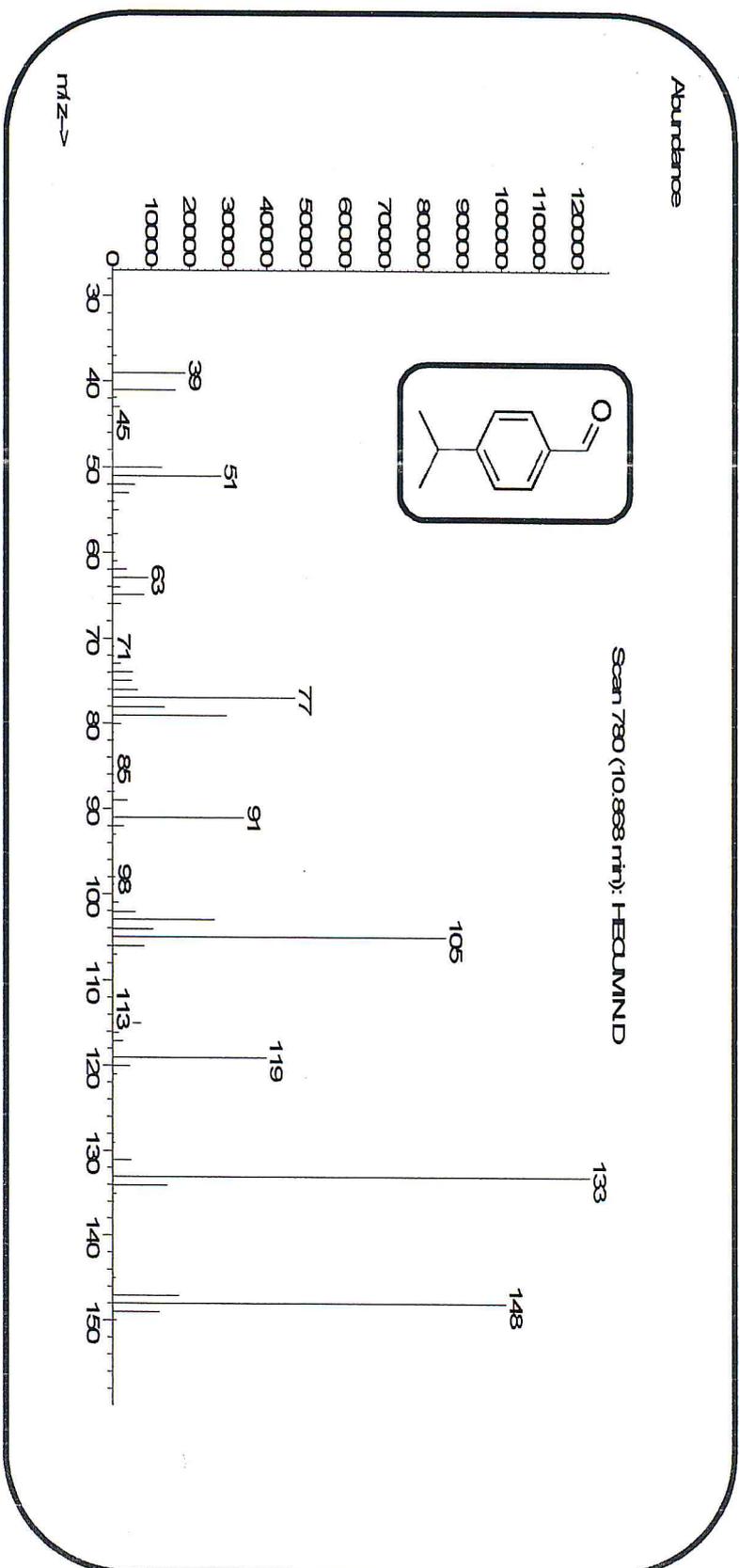


Figure II.7: Spectre de masse de cuminaldéhyde

Le spectre de masse du composé majoritaire (44.82%) de l'huile essentielle de cumin est représenté sur la figure II.7. Il est à noter que le taux du cuminaldéhyde obtenu par CG/SM peut être considéré comme une référence pour l'analyse par spectrométrie IRTF.

Chapitre III

**Dosage de cuminaldéhyde dans l'extrait de
cumin et d'anisaldéhyde dans l'huile
essentielle d'anis vert par FTIR**

III.1 Introduction

De nombreux travaux portés sur l'étude des monoterpènes dans l'huile essentielle de cumin ont été réalisés [18, 19, 21, 23, 26]. Ces monoterpènes sont présents dans l'huile à côté de différentes classes chimiques. Il a été montré que le principal aldéhyde monoterpénique présent dans cette huile essentielle est le cuminaldéhyde [19, 23, 24]. La littérature révèle également la présence d'un composé aromatique dans l'huile essentielle d'anis vert, il s'agit de l'anisaldéhyde [50].

III.2 Partie expérimentale

III.2.1 Appareillages et réactifs

III.2.1.1 Spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de marque Jasco modèle IRTF a été utilisé pour effectuer des mesures dans l'intervalle de nombre d'ondes 4000-400 cm^{-1} . Le système est équipé d'un détecteur sulfate triglicine deutré (DSTG) à température stabilisée, d'une séparatrice de radiation en KBr, d'une fonte type global et d'un système de processus digital (SPD). Afin de travailler en mode "«stop flow»", une cellule conventionnelle a été modifiée en une cellule de flux avec des fenêtres de fluorure de calcium CaF_2 et un parcours optique de 0.5 mm. L'avantage d'une telle cellule est d'éviter les inconvénients relatifs au nettoyage et au remplissage des cellules conventionnelles, pour minimiser la consommation des solvants organiques et pour un temps d'acquisition plus court (15-60s). L'acquisition des spectres infrarouge a été effectuée avec une résolution de 4 cm^{-1} , un nombre de balayage minimum égale à dix spectres et le «background» a été stabilisé avec le dichlorométhane utilisé pour la dilution des extraits.

Le montage de la figure III.1 a été utilisé pour effectuer les mesures dans l'infrarouge moyen, en employant des tubes de connexion en Téflon de diamètre intérieur de 0.8 mm et en fixant un débit de 1.5 $\text{ml}.\text{mn}^{-1}$.

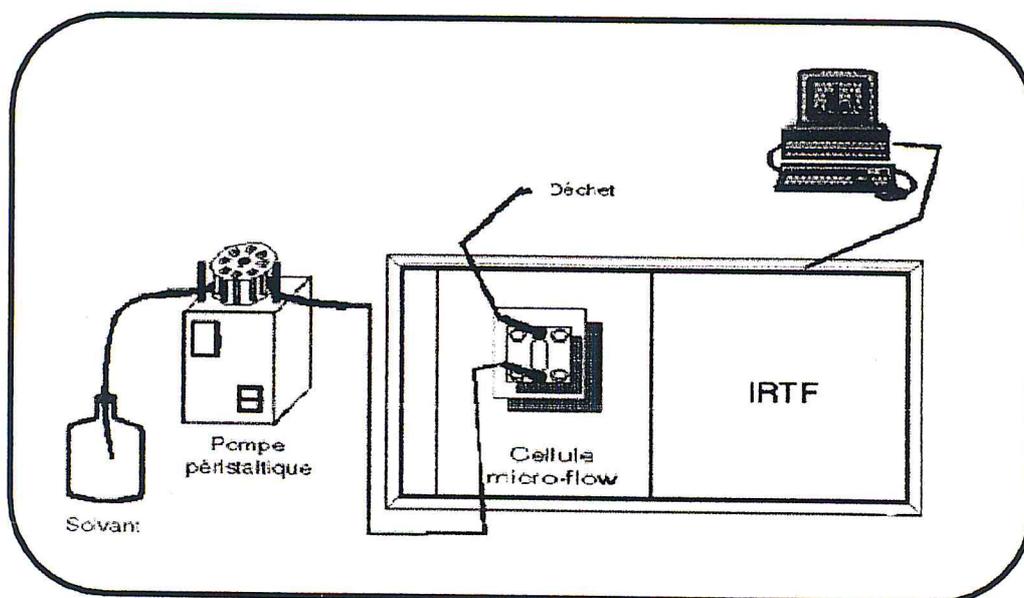


Figure III.1: Montage de flux utilisé pour l'étude quantitative

III.2.1.2 Réactifs :

Le solvant utilisé est le dichlorométhane stabilisé avec l'amylène, en plus des réactifs utilisés dans la section II.2.2.

III.3 Procédure générale

III.3.1 Préparation de l'extrait du cumin

L'extrait est obtenu par la macération de 230 g de cumin en poudre dans un solvant organique, le dichlorométhane d'un volume de 350 ml pendant 3 jours, le miscella extrait-solvant est filtré à travers un papier filtre. Suivi par évaporation à sec du solvant, le marc a subi un deuxième lavage afin d'épuiser la matière végétale. La masse de l'extrait obtenue est de 33.12 g. Le rendement de l'extrait est de 14.4%. Cette procédure est résumée sur l'organigramme de la figure III.2

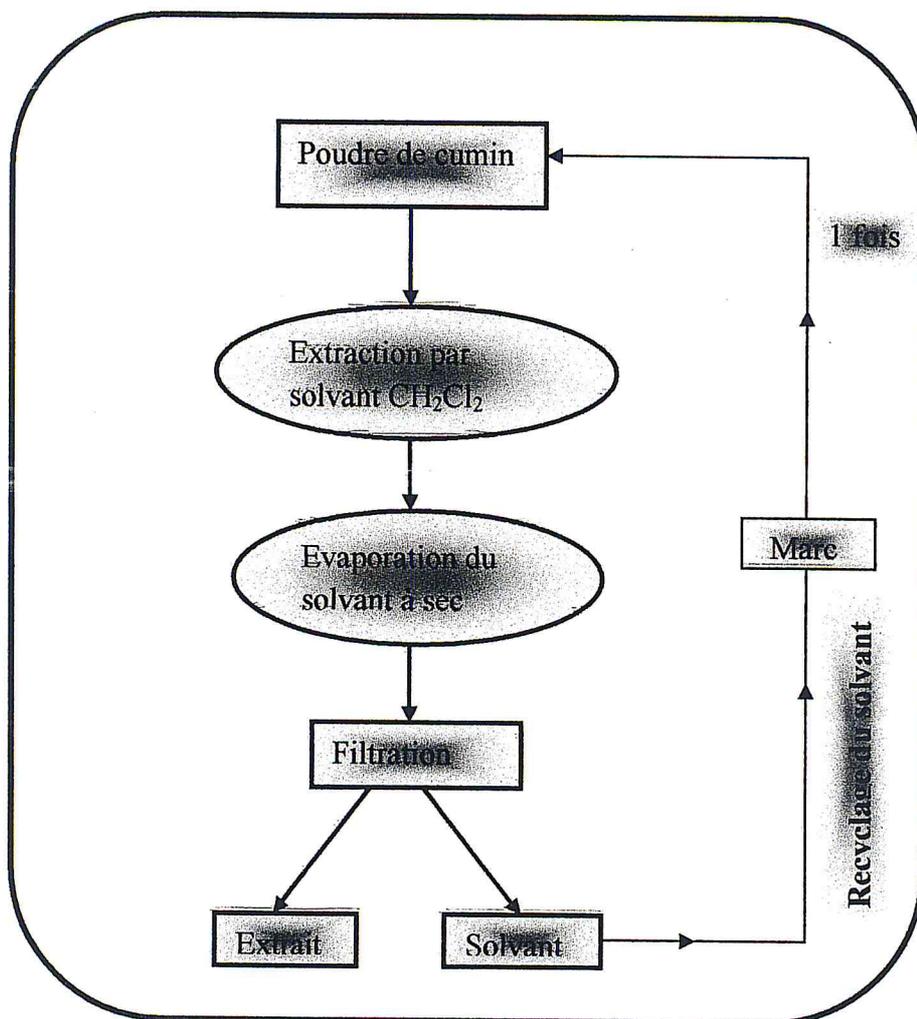


Figure III.2 : Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale

Le rendement exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

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

R : Rendement de l'extrait en %

m_{EXT} : masse de l'extrait en gramme (g)

m_{MV} : masse de la matière végétale en gramme (g)

III.3.2 Préparation de l'huile essentielle d'anis vert

III.3.2.1 Hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle est réalisée par hydrodistillation en utilisant l'appareil de Clevenger dans un montage à l'échelle laboratoire (figure III.3), comprenant un ballon tricol rempli d'eau contenant les graines d'anis vert surmonté

par un Clevenger, ce dernier est lié à un réfrigérant. Le ballon est porté à ébullition, les vapeurs formées sont condensées au niveau du réfrigérant. L'hétéro azéotrope mélange (eau - huile condensée) est récupéré dans le Clevenger et c'est l'avantage de ce dernier. La durée de l'extraction est fixée à 3h pour une masse de graines d'anis vert de 190.706 g.

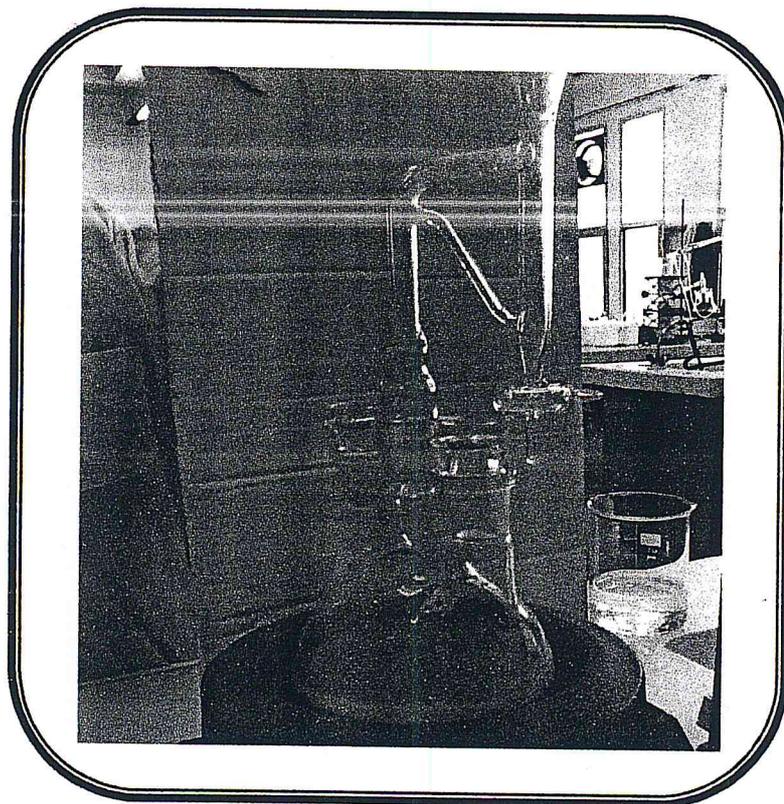


Figure III.3: Montage de l'hydrodistillation utilisant le Clevenger

III.3.2.2 Extraction liquide-liquide

Le mélange eau - huile essentielle est soumis à une extraction liquide-liquide avec de l'éther diéthylique. On obtient deux phases, une phase organique contenant l'huile essentielle dans l'éther et une phase aqueuse (figure III.4), on refait l'extraction liquide-liquide pour la phase aqueuse plusieurs fois afin de récupérer le maximum d'huile essentielle soluble dans l'eau. Les phases organiques obtenues sont mélangées et séchées sur du Na_2SO_4 pour éliminer toutes traces d'eau. La phase organique filtrée est distillée à la pression atmosphérique afin d'éliminer l'éther.

Le montage de l'extraction liquide-liquide est montré sur la figure III.4. La masse de l'huile essentielle est de 1.59 g. Le rendement de l'hydrodistillation est de 0.83%

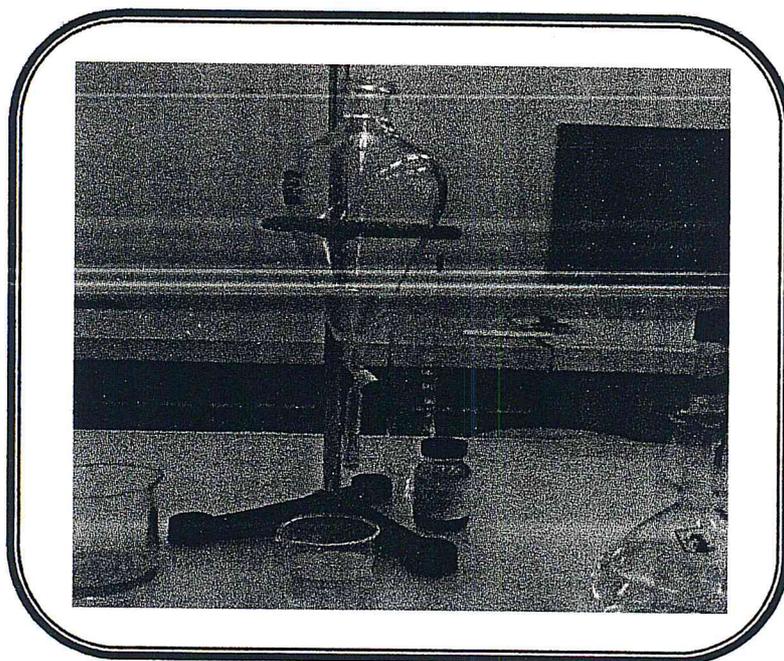


Figure III.4: Extraction liquide -liquide

III.4 Détermination de cuminaldéhyde et d'anisaldéhyde par spectrométrie IRTF dans le cumin et l' anis vert, respectivement

III.4.1 Détermination du taux de cuminaldéhyde par spectrométrie IRTF

100 mg d'extrait sont dilués dans le dichlorométhane jusqu'à un volume de 5ml, les spectres sont enregistrés en considérant un background stabilisé préalablement avec une cellule remplie de solvant. Finalement, on mesure les valeurs maximales d'absorbance de cuminaldéhyde à plusieurs bandes. Les absorbances sont corrigées avec des lignes de base appropriées. Pour le traitement des spectres, on a utilisé un macro qui donne les valeurs d'absorbance aux bandes sélectionnées, exprimées en terme de la hauteur du pic. Les valeurs d'absorbance corrigées sont extrapolées dans la droite de calibration obtenue pour des solutions de cuminaldéhyde préparées directement dans CH_2Cl_2 , pour différentes concentrations (0.75 à 10 mg ml^{-1}).

III.4.2 Détermination du taux de l'anisaldéhyde par spectrométrie IRTF

L'huile essentielle d'anis vert contient 0.76% d'anisaldéhyde [50], ce taux est faible donc on a fait appel à la calibration par addition standard qui consiste à ajouter une quantité bien précise d'étalon à l'huile essentielle pour augmenter sa teneur en anisaldéhyde afin d'effectuer la détermination quantitative.

Une masse bien précise de l'HE d'anis vert avec ou sans étalon est diluée dans le CH_2Cl_2 pour être analysée dans les mêmes conditions d'analyse que le cumine (section III.4.1).

III.5 Résultats et discussions

III.5.1 Analyse IRTF du cumine

III.5.1.1 Spectre IRTF du cuminaldéhyde dilué dans CH_2Cl_2

La figure III.5 montre le spectre IRTF de l'étalon du cuminaldéhyde dilué directement dans CH_2Cl_2 . La gamme étudiée s'étale de $800\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$, et la plupart des bandes se situent entre 800 et 1800 cm^{-1} . Les deux bandes à 830 cm^{-1} et 840 cm^{-1} qui correspondent à la vibration de déformation de la liaison C-H d'un cycle aromatique, la bande à 1097 cm^{-1} qui correspond à la liaison para substituée d'un cycle benzénique, la bande à 1214 cm^{-1} qui correspond à la vibration d'élongation d'un éther, et la bande forte à 1730 cm^{-1} qui correspond à la vibration d'élongation de la liaison C=O d'un aldéhyde aromatique.

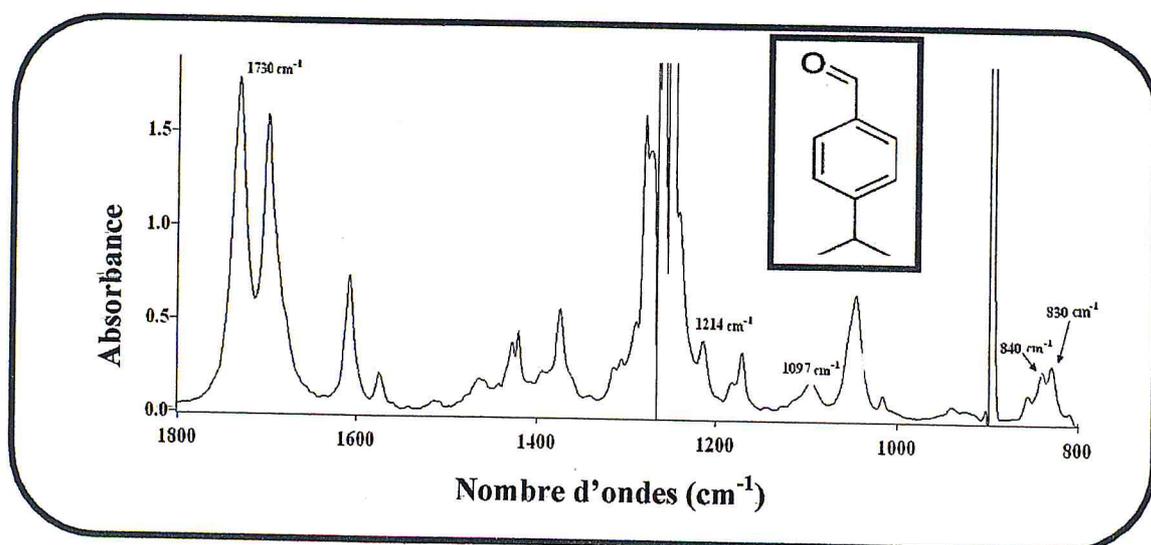


Figure III.5 : Spectre IRTF du cuminaldéhyde préparé directement dans CH_2Cl_2

III.5.1.2 Choix de la bande caractéristique pour la détermination du cuminaldéhyde par spectrométrie IRTF

Afin de déterminer le taux de cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin on a considéré les différentes bandes citées dans le paragraphe III.5.1.1. Pour établir les droites d'étalonnage correspondantes, on a considéré une série de solutions d'étalons de cuminaldéhyde diluée dans CH_2Cl_2 dans un domaine de concentration qui varie de 0.7 à 10 mg.ml^{-1} . Comme le montre la figure III.6

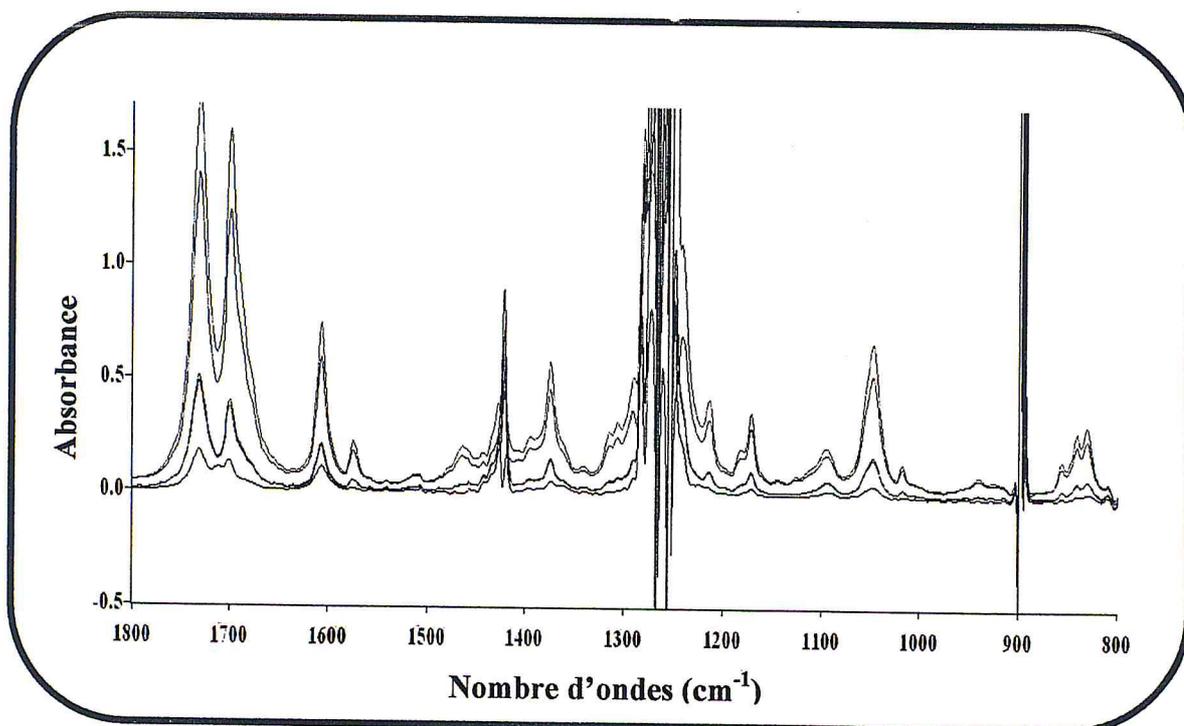


Figure III.6: Spectres d'absorbance des solutions de cuminaldéhyde préparé directement dans CH_2Cl_2 , pour un domaine de concentration compris entre 0.7–10 mg.ml^{-1}

Les caractéristiques analytiques du cuminaldéhyde pour les bandes sélectionnées sont représentées dans le tableau III.1

Tableau III.1 : Caractéristiques analytiques du cuminaldéhyde dans CH₂Cl₂
 En considérant les bandes préalablement sélectionnées

Max : (cm ⁻¹) Ligne de base	Paramètres
830 : 812-889	D.C : $-0.001756+0.012032C$ (r)=0.9997 L.D (µg.ml ⁻¹) =0.442071 D.S.R (%) (n=10) = 3.695097
840 : 813-889	D.C : $-0.003571+0.008932C$ (r)=0.9999 L.D (µg.ml ⁻¹) =0.644200 D.S.R (%) (n=10) = 2.738693
1097 : 957-1325	D.C : $-0.000674+0.011918C$ (r)=0.9999 L.D (µg.ml ⁻¹) =0.04329 D.S.R (%) (n=10) = 0.757675
1214 : 946-1322	D.C : $0.000322+0.011581C$ (r)=0.9998 L.D (µg.ml ⁻¹) =0.029272 D.S.R (%) (n=10) = 2.641868
1730 : 1631-1884	D.C : $0.006430+0.133004C$ (r)=0.9998 L.D (µg.ml ⁻¹) =0.021242 D.S.R (%) (n=10) = 0.921884

D.C : Droite de calibration, r : coefficient de corrélation, L.D : limite de détection en µg.ml⁻¹ obtenue pour un niveau de confiance de 99.6% (K=3), D.S.R (%) : Déviation Standard Relative (pour =5mg.ml⁻¹), C : Concentration en mg.ml⁻¹, Domaine de concentration 0.7 -10 mg.ml⁻¹.

Etant donné que le cuminaldéhyde est un composé majoritaire dans le cumin [5, 19], alors sa détermination directe sans traitement préalable par spectrométrie IRTF est possible.

Pour déterminer le taux du cuminaldéhyde dans l'extrait du cumin, une masse de ce dernier de 109.7 milligrammes a été diluée dans 5ml de CH₂Cl₂ /amylène et

analysée par spectrométrie IRTF. En considérant les différentes bandes sélectionnées suivant leurs caractéristiques analytiques mentionnées dans le tableau III.1, les absorbances de ces bandes déterminées à partir de l'extrait de cumin sont extrapolées dans les droites d'étalonnage correspondantes (tableau III.2).

Tableau III.2 Pourcentage de cuminaldéhyde dans l'extrait de cumin

Max : (cm ⁻¹) Ligne de base	Absorbance	Concentration (mg.ml ⁻¹)	Taux du cuminaldéhyde
830 :812-889	0.073910	6.288	31.44
840 :813-889	0.076976	9.017	45.08
1097 :957-1325	0.096458	8.15	40.75
1214 :946-1322	0.145491	12.53	62.67
1730 :1631-1884	1.195938	8.943	44.71

109.7 Milligrammes d'extrait dilué dans 5 ml de CH₂Cl₂, valeur moyenne ± déviation standard relative de deux mesures indépendantes.

Conditions expérimentales : Résolution nominale : 4 cm⁻¹, nombre de balayage minimum égal à 10 spectres, parcours optiques : 0.5 mm, background de la cellule remplie avec le solvant de dilution.

L'examen du tableau III.2 montre que les trois bandes de cuminaldéhyde à 840 cm⁻¹, à 1097 cm⁻¹ et à 1730 cm⁻¹ donnent des taux d'analyte proches. Etant donné que les caractéristiques analytiques du cuminaldéhyde de la bande à 1097cm⁻¹ sont les meilleurs à savoir la sensibilité, la limite de détection et la déviation standard relative les plus basses (tableau III.1) alors, cette dernière a été sélectionnée pour effectuer la détermination quantitative.

II.5.1.3 Détermination du cuminaldéhyde dans l'extrait du cumin

A partir du spectre de l'extrait brut du cumin dilué dans CH₂Cl₂ tout en considérant la bande spécifique du cuminaldéhyde à 1097 cm⁻¹ (figure III.7) et en utilisant la droite de calibration de cette bande, le taux du cuminaldéhyde est obtenu. Il est de 40.75%.

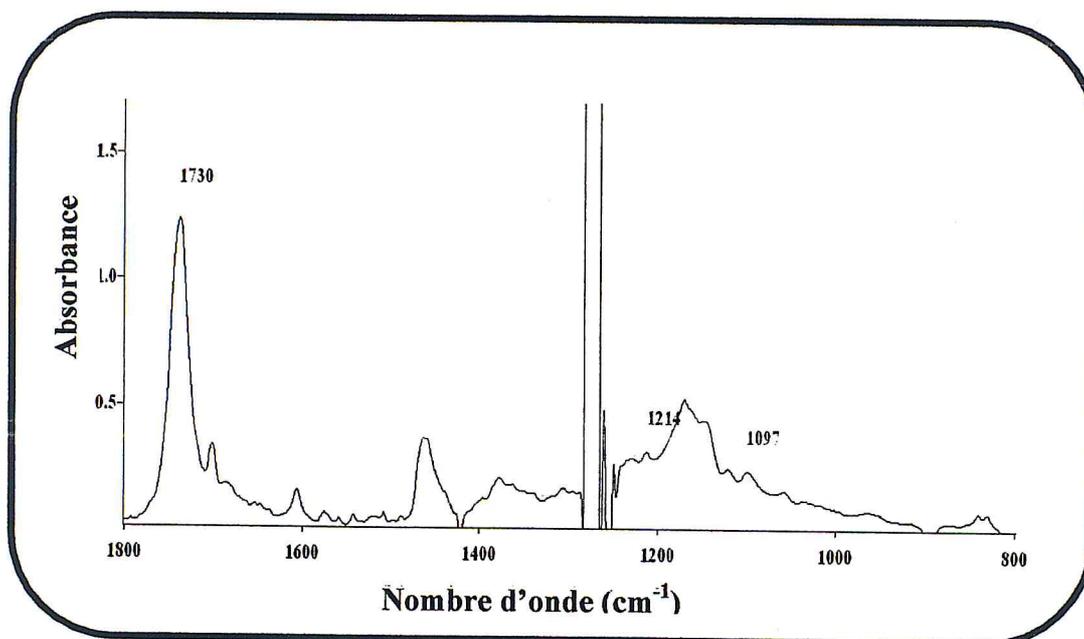


Figure III.7 : Spectre IRTF d'environ 109.7 mg d'extrait de cumin dilué dans 5 ml de CH_2Cl_2

III.5.2 Analyse IRTF de l'anis vert

III.5.2.1 Spectre IRTF d'anisaldéhyde dans CH_2Cl_2

La figure III.8 montre le spectre IRTF de l'étalon d'anisaldéhyde préparé directement dans CH_2Cl_2 stabilisé avec l'amylène'. La gamme étudiée s'étale de 1000-4000.

Le spectre présente des bandes d'absorption à 1160 cm^{-1} caractéristique d'une vibration d'élongation du groupement C-O d'une fonction éther, à 1216 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation d'un éther, et à 1314 cm^{-1} présente la déformation des groupes CH, CH_2 et CH_3 .

La bande d'absorption à 1578 cm^{-1} correspond à une vibration e d'élongation de la liaison C=C d'un cycle aromatique. Il montre aussi deux bandes à 1687 cm^{-1} et à 1697 cm^{-1} caractéristiques de la liaison C=O d'un aldéhyde. On constate également sur le spectre une bande d'absorption à 2745 cm^{-1} correspondant à l'élongation d'un groupement C-H d'un aldéhyde,

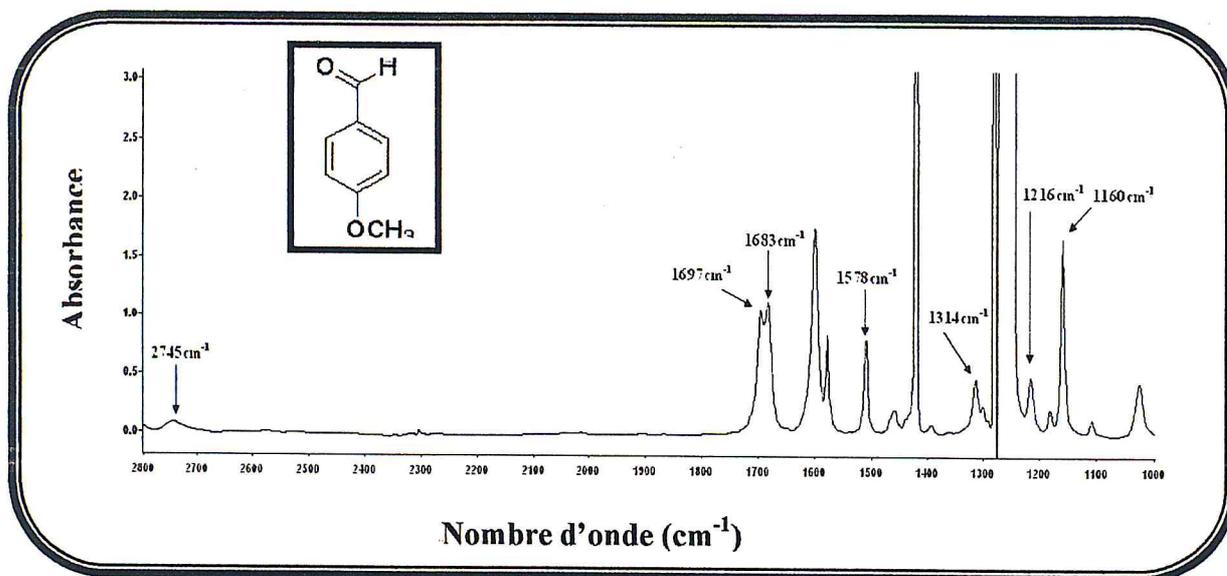


Figure III.8 : Spectre IRTF de l'anisaldéhyde dans CH_2Cl_2 5 mg.ml^{-1}

III.5.2.2 Sélection de la bande spécifique pour la détermination de l'anisaldéhyde dans l'anis vert par spectrométrie IRTF

Pour évaluer le pourcentage de l'anisaldéhyde dans l'HE d'anis vert. On a établi les droites d'étalonnage pour les différentes bandes déjà mentionnées sur la figure III.8 et ce, on considérant une série de solutions étalons d'anisaldéhyde préparée directement dans CH_2Cl_2 , dans un domaine de concentration allant de 0.7 à 10 mg.ml^{-1} comme l'illustre la figure III.9

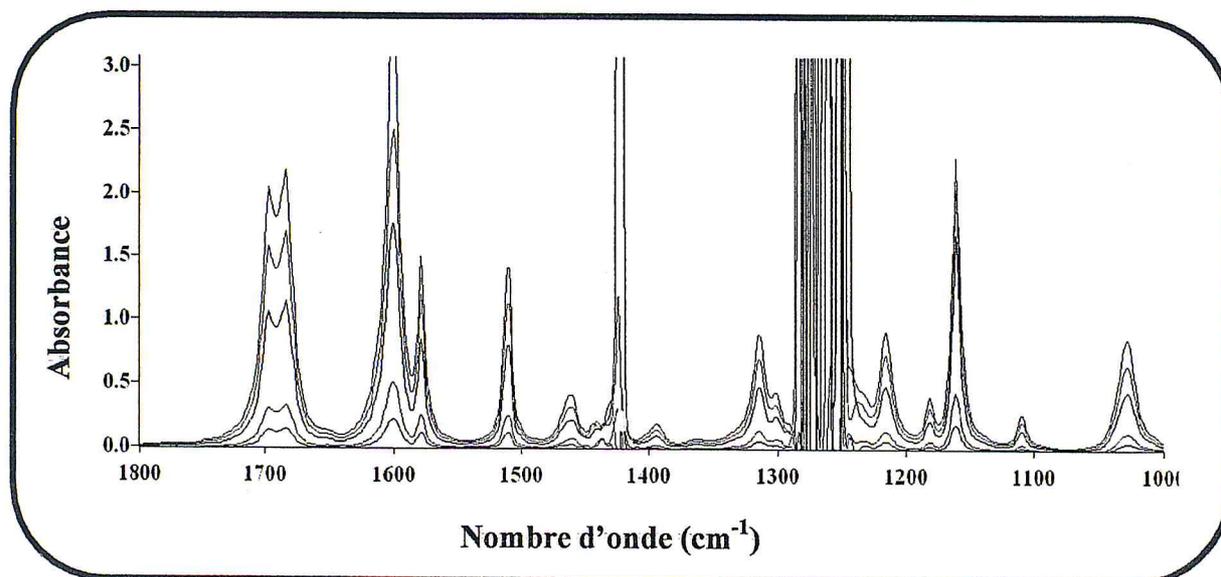


Figure III.9 : Spectres d'absorbance d'une série de solutions étalons d'anisaldéhyde préparée directement dans CH_2Cl_2

Les caractéristiques analytiques de l'anisaldéhyde pour les différentes bandes sélectionnées sont montrées dans le tableau III.3

Tableau III.3 : Caractéristiques analytiques de l'anisaldéhyde dilué dans CH₂Cl₂ Pour différentes bandes

Max : (cm ⁻¹) Ligne de base	Paramètres
1160 : 653-2241	D.C : 0.0014132+0.207853C (r)=0.9995 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.907030 D.S.R (%) (n=10)= 8.93
1216 : 658-1792	D.C : -0.012789+0.064158C (r)=0.9989 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.026933 D.S.R (%) (n=10)= 3.06
1314 : 1075-1354	D.C : 0.012785+0.025976C (r)=0.9978 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.030285 D.S.R (%) (n=10)= 6.40
1578 : 1540-1757	D.C : 0.003060+0.155951C (r)=0.9996 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.014966 D.S.R (%) (n=10)= 6.14
1683 : 1542-1799	D.C : 0.071614+0.212570C (r)=0.9890 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.014127 D.S.R (%) (n=10)= 6.59
1697 : 1286-2130	D.C : 0.049807+0.18724C (r)=0.9936 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.015108 D.S.R (%) (n=10)= 7.83
2745 : 2667-2883	D.C : 0.00594+0.016097C (r)=0.9938 L.D (µg.ml ⁻¹)=0.049947 D.S.R (%) (n=10)= 6.98

D.C : Droite de calibration, r : coefficient de corrélation, L.D : limite de détection en µg.ml⁻¹ obtenue pour un niveau de confiance de 99.6% (K=3), D.S.R (%) : Déviation Standard Relative (pour =5mg.ml⁻¹), C : Concentration en mg.ml⁻¹, Domaine de concentration 0.7 -10 mg.ml⁻¹

III.5.2.3 Détermination de l' anisaldéhyde dans l' HE de l' anis vert

Afin de déterminer le taux d'anisaldéhyde dans l'anis vert, une masse de 152 milligrammes d'anis vert a été diluée dans 1 ml de CH₂Cl₂ et analysée par spectrométrie IRTF. Selon le tableau III.5, les différentes bandes donnent des taux différents. Pour sélectionner la bande caractéristique de l'anisaldéhyde on a fait appel à la calibration par addition standard. Où on a considéré une masse bien précise d'HE d'anis vert à laquelle on a ajouté une quantité bien déterminée d'anisaldéhyde, le

mélange a été dilué dans CH_2Cl_2 et soumis à l'analyse par spectrométrie IRTF. L'opération a été répétée 1 fois (Tableau III.4)

Tableau III.4 : Quantités d'HE d'anis vert et d'HE d'anis vert enrichie en anisaldéhyde utilisées pour effectuer la détermination quantitative

	Masse d'HE _{AV} (mg)	Masse d'anisaldéhyde ajoutée (mg)	Volume de CH_2Cl_2 ajouté (ml)	Concentration d'anisaldéhyde ajoutée (mg.ml^{-1})
Fiole 1	152	0	1	0
Fiole 2	110.1	16.9	3.4	4.97
Fiole 3	112.2	17.3	3.5	5

Les absorbances des bandes caractéristiques de l'anisaldéhyde déterminées à partir de l'HE d'anis vert sont extrapolées dans les droites de calibration correspondantes. Les taux d'anisaldéhyde dans l'anis vert ainsi que l'exactitude sont montrés dans le tableau III.5.

Tableau III.5 : Taux d'anisaldéhyde obtenu dans l'huile essentielle d'anis vert

Max : (cm^{-1}) Ligne de base	Concentration d'anisaldéhyde ajoutée en mg.ml^{-1}	Absorbance	Concentration du mélange étalon+ HE en mg.ml^{-1}	Taux en %	Exactitude en %
1160 : 653-2241	0	-0.006267	0.037	0.29	/
	4.97	1.021110	4.98		99.4
	5	1.035724	5.05		100.25
1216 : 658-1792	0	0.001137	0.217	0.14	/
	4.97	0.305789	4.96		95.6
	5	0.310109	5.03		96.4
1314 : 1075-1354	0	0.284619	3.577	2.35	/
	4.97	0.33133	4.192		49.04
	5	0.456848	5.844		68.1
1578 : 1540-1757	0	0.667309	4.259	2.80	/
	4.97	0.609940	3.891		42.1
	5	0.642980	4.103		44.3
1683 : 1542-1799	0	-0.003979	0.312	0.20	/
	4.97	0.765453	3.93		74.4
	5	0.783246	4.02		75.7
1697 : 1286-2130	0	-0.022838	0.389	0.25	/
	4.97	0.706671	3.51		65.4
	5	0.714377	3.55		65.8
2745 : 2667-2883	0	0.050276	2.800	1.84	/
	4.97	0.070250	4.041		52.00
	5	0.069712	4.008		51.38

En examinant le tableau III.5, on remarque que seulement la bande à 1216 cm^{-1} qui présente un taux d'exactitude autour de 96% avec les meilleurs caractéristiques analytiques à savoir la sensibilité qui obéit à la loi de Beer –Lambert ainsi que la bonne corrélation. Donc la bande à 1216 cm^{-1} montrée sur la figure III.10 qui représente la vibration d'un groupement d'éther a été sélectionnée pour donner le taux d'anisaldéhyde de l'anis vert.

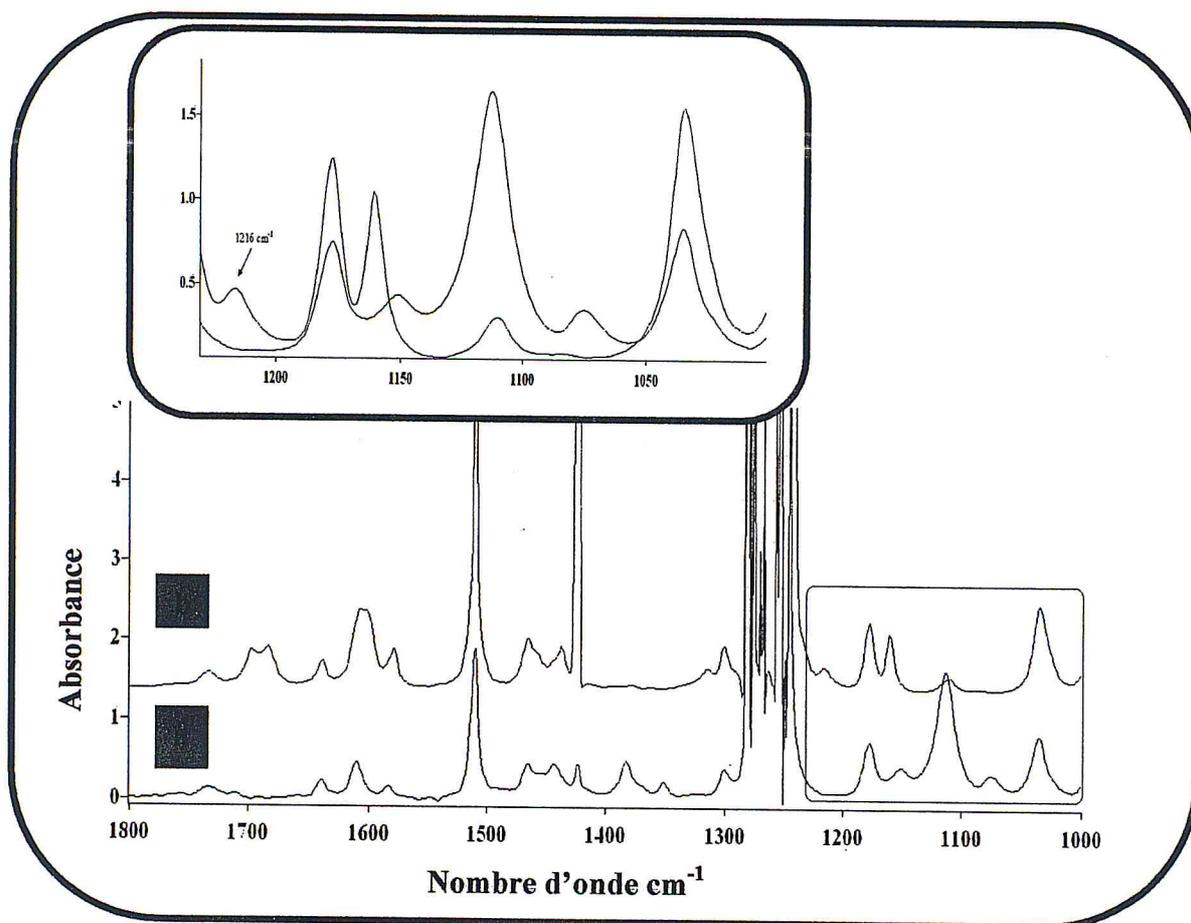


Figure III.10 : Spectre IRTF d'anis vert dans CH_2Cl_2 avant l'enrichissement (a), et après enrichissement(b)

Le taux de l'anisaldéhyde dans l'huile essentielle de l'anis vert préparée directement dans CH_2Cl_2 et déterminé par spectrométrie IRTF est de l'ordre de 0.14%

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Notre mémoire a été consacré, d'une part, à l'étude chimique de l'extrait d'une plante médicinale et aromatique utilisée comme épice, il s'agit du cumin (*Cuminum cyminum* Linné) par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. D'autre part, au dosage d'un aldéhyde monoterpénique le cuminaldéhyde dans le cumin et d'un composé aromatique anisaldéhyde dans l'épice anis vert (*Pimpinella anisum* Linné) par spectrométrie IRTF.

Les travaux expérimentaux sont répertoriés dans les chapitres 2 et 3

Le chapitre 2 regroupe les résultats concernant l'analyse de l'huile essentielle de cumin par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Cette huile essentielle a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement de l'extraction de 0.97%. L'étude analytique qualitative montre la richesse de cette huile en terpènes terpènes et particulièrement en monoterpènes tel que le cuminaldéhyde qui est le produit majoritaire avec 44.8 %, accompagné par d'autres monoterpènes : β -pinène (1.12%) et o-cymène (1.9%). On relève également la présence de composés oxygénés avec 19.15% ainsi que des acides gras avec 3.38% et le reste sont d'autres composés chimiques non identifiés.

Le chapitre 3 comporte les résultats de la détermination par spectrométrie IRTF :

Le taux de cuminaldéhyde dans l'extrait du cumin a été obtenu par spectrométrie IRTF sans traitement préalable en considérant la bande d'absorbance spécifique du cuminaldéhyde à 1097 cm^{-1} corrigée avec une ligne de base stabilisée entre 957 et 1325 cm^{-1} . Le taux de cuminaldéhyde trouvé est de 40.75%.

Etant donné que le taux d'anisaldéhyde est faible dans l'huile essentielle d'anis vert [], la détermination de ce dernier par spectrométrie IRTF a été effectuée après dilution de l'HE directement dans le solvant et ce, après l'ajout d'une quantité bien déterminée du standard (enrichissement). En considérant la bande d'absorbance spécifique à 1216 cm^{-1} corrigée avec une ligne de base stabilisée entre 658 et 1792 cm^{-1} . Le pourcentage de l'anisaldéhyde dans l'anis vert est de 0.14%.

Les résultats obtenus montrent que cette méthode est facile, rapide, reproductible, peu coûteuse.

Comme perspectives à cette étude, on peut évoquer :

–Deuxièmement, la détermination du taux d'anisaldéhyde dans l'huile essentielle d'anis vert, en considérant la bande d'absorbance spécifique. D'après ces résultats, on peut conclure que la méthode utilisée est facile, rapide, reproductible et donne des valeurs qu'on peut les considérer comme des références par rapport à d'autres techniques analytiques.

Références bibliographiques

1. Mallem, T., « Etude phytochimique de l'exsudat et huiles essentielles de l'espèce *Inula crithmoides* », Mémoire de Magister en sciences, Université Mentouri, Constantine, (2003).
2. Naghibi F., Mosaddegh M., Mohammadi M.S. et Ghorbani A., « Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology », Iranian Journal of Pharmaceutical Research, Vol.2, (2005), pp 63-79.
3. Babulka P., « plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales: de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne », Phytothérapie, Vol.5, (2007), pp 137-145.
4. Delaveau P., « Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments », Albin Michel, (1987), p 372.
5. Richard H., « Epices et Aromates », Tec et Doc, Lavoisier apria, (1992).
6. Guenther E., in « The Essential Oils », Krieger Publishing Co., Malabar, Florida Vol.I (1972).
7. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Review MI, « Biological effects of essential oils », A review Food and Chemical Toxicology, Vol.46, (2008), pp 446-475.
8. Bekhechi C., Atik-Bekkara F., Abdelouahid D.E., « Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie », Phytothérapie, Vol.6, (2008), pp 153-159.
9. Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., Martino M., Abdou L., Vergnes MF., « Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne », Phytothérapie, Vol.6, (2008), pp 160-164.
10. Rota M.C., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J., « Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils », Food Control, Vol.19, (2008), pp 681-687.
11. Ramos-Valdivia (R.), Van der Heijden (R.), Camara (B.), Verpoorte (R.), « Purification and characterization of isopentenyl pyrophosphate isomerase from elicitor-treated *Cinchona robusta* cell suspension cultures ». - *2nd Symposium of the European Network on Plant Terpenoids*, pp23-27, (1994) Strasbourg.
12. Cane (D.E.), Abell (C.), Harrison (P.H.M.), Hubbard (B.R.), Kane (C.T.), Lattman (R.), Oliver (J.S.), Weiner (S.W.), « Terpenoid biosynthesis and the stereochemistry of enzyme-catalyzed allylic addition-elimination reactions », *Philos. Trans. R. Soc, B*, (1991), pp123-129, London

13. Bruneton J., "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, monoterpènes et sesquiterpènes, 3eme édition, TEC & DOC, Lavoisier, Paris, (1999), pp 484-497.
14. J.Q.Cu. : «Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques». Thèse de l'Institut Nationale Polytechnique, Toulouse, France, (1990).
15. Elisabeth Lucchesi M., «Extraction Sans Solvant Assistée par micro ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles», Thèse de Doctrat en sciences, Université de la Reunion, (2005).
16. Kan Y., Kartal M., Özek T., Aslan S., et Hüsnü Can Başer K., «Composition of essential oil of *cuminum cyminum* L. according to harvesting times», Turkish J. Pharm.Sci, Vol. 4(1), 2007, pp25-29.
17. Ishida T, Toyota M., Asakawa Y., «Terpenoid biotransformation in mamals. V. Metabolism of (+) citronellal, citral, cuminaldehyde...», *Xenobiotica*, 19(8), Aug (1989), pp.843-855.
18. Oroojalian F., Kasra-Kermanshahi R., Azizi M., Bassami M.R., « Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens», Food Chemistry, Vol.120, (2010), pp 765-770.
19. Panchangam Murali Krishna, Katreddi Hussain Reddy, «Synthesis, single crystal structure and DNA cleavage studies on first 4N-ethyl substituted three coordinate copper (I) complex of thiosemicarbazone», *Inorganica Chimica Acta*, Vol. 362, (2009), pp4185-4190.
20. Seied Mahdi Pourmortazavi, Seiedeh Somayyeh Hajimirsadeghi, « Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis», *Journal of Chromatography A*, Vol. 1163, (2007), pp 2–24.
21. M. Zahran H.E.D., Abdelgaleil S.A.M., « Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae)», *Journal of Asia-Pacific Entomology*, Vol. 14, (2011), pp46–51.
22. Qinqin Chen, Xuefang Hu, Jingming Li, Ping Liu, Yang Yang, et Yuanying Ni, « Preparative isolation and purification of cuminaldehyde and p-menta-1,4-dien-7-al from the essential oil of *Cuminum cyminum* L. by high-speed counter-current chromatography», *Analytica Chimica Acta*, Vol. 689, (2011), pp 149–154.
23. Hajlaoui, H., Mighri, H., Noumi, E., Snoussi, M., Trabelsi, N., Ksouri, R., et Bakhrouf, A, « Chemical composition and biological activities of Tunisian

Cuminum cyminum L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains», *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 48, (2010), pp 2186–2192.

24. Sowbhagya H.B., Srinivas P., Kaul Purnima T., et Krishnamurthy N., « Enzyme-assisted extraction of volatiles from cumin (*Cuminum cyminum* L.) Seeds», *Food Chemistry*, Vol.127, (2011), pp1856–1861.
25. Sushmita Behera, Nagarajan S., et Jagan Mohan Rao L., « Microwave heating and conventional roasting of cumin seeds (*Cuminum cyminum* L.) And effect on chemical composition of volatiles», *Food Chemistry*, Vol. 87 (2004), pp 25–29.
26. Razzaghi Abyaneh M., Shams Ghokhi M., Rezaee M.B., Jaimand K., Alinezhad S., Sabri R., et Yoshinari T, «Chemical composition and antiaflatoxic activity of *Carum carvi* L., *Thymus vulgaris* and *Citrus aurantifolia* essential oils», *Food Control*, Vol. 20 (2009), pp 1018–1024.
27. Weast, R.C. ET Astle, M.J., *CRC handbook of chemistry and physics*. 63rd ed. 1982-1983. Boca Raton, Fla.: CRC Press. (1982).
28. Cook, E.L. et al., «Food flavourings and compounds of related structure. I. Acute oral Toxicity. » *Food and Cosmetics Toxicolog*, (1964) Vol. 2, pp. 327-343.
29. Gunasekaran.S., Seshadri.S. , Muthu.S., Kumaresan.S., et Arunbalaji.R., «Vibrational spectroscopy investigation using ab initio and density functional theory on *p*-anisaldehyde», *Spectrochimica Acta Part*, Vol.70, (2008), pp 550–556.
30. Hongzhe.T., Bingcheng.Y., Wenna.G., et Yafeng.G., « Microcolumn solid-phase extraction coupled online to capillary liquid chromatography using a valve switching technique», *Anal Chem*, Vol.34(6),(2006), pp 759–763.
33. El Walily.A.F.M., Abdine.H.H., Abdel Razak.O., et Zamel.S., « Spectrophotometric and HPLC determination of secnidazole in pharmaceutical tablets», *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Vol.22, (2000), pp 887–897.
31. Benjaram M.R., Komateedi N.R., Gunugunuri.K.R., Pankaj.B., «Characterization and catalytic activity of V₂O₅/Al₂O₃-TiO₂ for selective oxidation of 4-methylanisole», *Molecular Catalysis A: Chemical*, Vol.253, (2006), pp 44–51.
32. Okamoto.K., Narayama.S., Katsuo.A., Shigematsu.I., et Yanase.H, « Biosynthesis of *p*-Anisaldehyde by the white-rot basidiomycete *Pleurotus treatus*», *Bioscience and Bioengineering*, Vol. 93(2), (2002), pp 207-210.
34. Franchome.P, Péroël D-Matière médicale aromatique fondamentale-l'aromathérapie exactement, édition Roger Jallois, Limoges, Vol.4, (1990). pp 317-446.

35. Khajeh M, Yamini Y, Bahramifar N, Sefidkon F et Pirmoradei M R, «Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods», *Food chemistry*, Vol.91(4), (2010), pp 227-232.
36. Golmakani M T and Rezaei K, « Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris L.*», *Food chemistry*, Vol.109, (2008), pp 925-930.
37. Fakhari A R, Salehi P, Heydari R, Ebrahimi S N and Paul R. Haddad, «Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia Mill.*», *Journal of Chromatography A*, Vol.1098, (2005), pp 14-18.
38. Kiyanpour V, Fakhari A R, Alizadeh R, Asghari B and Jalali-Heravi M, «Multivariate optimization of hydrodistillation-headspace solvent microextraction of thymol and carvacrol from *Thymus transcaspicus.*», *Talanta*, Vol.79, (2009), pp 695-699.
39. Jerković I, Mastelić J., Marijanović Z., Klein Ž., et Jelić M., « Comparison of hydrodistillation and ultrasonic solvent extraction for the isolation of volatile compounds from two unifloral honeys of *Robinia pseudoacacia L.* and *Castanea sativa L.*», Vol.14(6), (2007), pp 750-756.
40. Djabou N «*Sambucus Nigra L.*, une plante de la pharmacopée traditionnelle Nord africaine» Thèse de Magistère en chimie, université ABOU-Bekr Belkaid ; Tlemcen, (2006).
41. Flamand B., «Chimie Organique expérimentale», Modulo éditeur, Québec, 1986.
42. Ben Mellem Z., Benkessiour S., «Etude et valorization des extraits de l'algue rouge (*asparagopsis Armata*) », Mémoire de fin d'étude, université de Blida, 1999.
43. Skoog. West. Holler ; B.H. et Hall ; «Chimie analytique» Traduction et revision scientifique de la 7eme 2dition américaine.
44. Bözli J.C., Moret E., «Analyse Instrumentale», Edition, 1992
45. Lide, Jr.D.R., "Status Report Critical Compilation of Physical Chemical Data", *Annual Review of Physical Chemistry*, Vol.24, 1973, pp 135-158.
46. Lettington A.H., «Infrared Technology and Applications», SPIE-proceedings, Ed. Bellingham WA, London, UK, (1990), Vol.1320 [Notes(s): IX-484 p.].
47. Gunasekaran, S., Seshadri, S., Muthuc, S., Kumaresan, S., Arunbalaji, R., « Vibrational spectroscopy investigation using ab initio and

density functional theory on *p*-anisaldehyde», *Spectrochimica Acta Part A*, Vol.70, (2008), pp 550–556.

48. Bouzidi N., «Contribution à l'étude chimique d'algues marines méditerranéennes : analyse quantitative des stérols de l'extrait lipidique par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier», thèse de doctorat, Université de Blida, Decembre 2009.
49. Aliche Z., «Contribution à l'étude chimique des extraits lipidiques et fractions volatiles de l'algue brune *Cystoseira sedoïdes*», thèse de magister, Université de Blida, Juin 2008.
50. Matthieu.C «Une agriculture pour le XXI^{ème} siècle», Ed. Charles Léopold Mayer, Val d'oise, France, (2007)