

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB DE BLIDA



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire Présenté par

LIFIFE Sarah

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie des substances naturelles

**Etude chimique de l'huile essentielle de carvi et détermination du
taux de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi
par spectrométrie infrarouge**

Soutenue le 15/09/2011, devant le jury composé de :

O. MOHHAMEDI	Professeur	Université de BLIDA	Président
N. BOUCHENAFSA SAIB MCA		Université de BLIDA	Examineur
N. BOUZIDI	MCB	Université de BLIDA	Examineur
Y. DAGHBOUCHE	Professeur	Université de BLIDA	Rapporteur

RESUME

L'objectif principal de ce travail a pour but de contribuer au développement des applications analytiques quantitatives de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier. Cette méthode analytique simple, rapide est utilisée pour la détermination de la fraction monoterpénique carbonyle (analysée globalement sous forme de carvone) de l'extrait de carum carvi, sans traitement préalable de ce dernier.

Les valeurs d'absorbance, en considérant la bande spécifique à 1732 cm^{-1} corrigées avec une ligne de base comprise $1830\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$, donnent un taux de la fraction monoterpénique carbonyle de 46%.

L'utilisation du spectre de la première dérivée du spectre direct à 1732 cm^{-1} permet la détermination spécifique de la fraction monoterpénique cétonique de l'extrait de carvi et ce, en utilisant le volet gauche du spectre dérivé à 1742 cm^{-1} . Le taux de la dite fraction est de 39%, dominant la fraction monoterpénique carbonyle avec un taux de 81%.

La comparaison des résultats obtenus avec ceux déterminés pour l'huile essentielle de carvi par CG-SM montre la cohérence des valeurs.

Mots clés: Carum carvi, extrait, monoterpène carbonyle, carvone, CG-SM, spectrométrie IRTF et spectre dérivé.

ABSTRACT

The principal objective of this work is to contribute to the development of the quantitative analytical applications of Fourier transform infrared spectrometry. This simple analytical method, fast and especially available was used for the direct determination of the monoterpene carbonyl fraction (globally analyzed as carvone) obtained from the extract of *carum carvi*.

The absorbance values while considering the specific band at 1732 cm^{-1} corrected with a baseline established between $1830\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$ give a rate of 46% of the monoterpene carbonyl fraction.

The spectrum of the first order derivative of the direct spectrum at 1732 cm^{-1} allowed the specific determination of monoterpene ketone fraction of the extract of caraway and that, by using the left valley of the derivative spectrum at 1742 cm^{-1} . The rate of the said fraction is 39% in the extract and 81% in the monoterpene carbonyl fraction.

The comparison of the obtained results with those determined for the essential oil of *carvi* by GC-MS shows the coherence of the values.

Keywords: extract of *Carum carvi*, monoterpene carbonyl, carvone, GC-MS, FTIR spectrometry and derivative spectrum.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو المساهمة في تطوير تطبيقات التحليل الكمي في القياس الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لتحويل فوريي.

هذه التقنية التحليلية بسيطة ، سريعة و خصوصا متوفرة على مستوى المخابر ، تستعمل لتحديد جزء أحادي تربين بصيغة كربونيل (محللة إجماليا على شكل كرفون) من مستخلص الكروية من دون علاج مسبق لهذا الأخير.

قيم الامتصاص ، لطول الموجة الخاصة عند 1732 سم⁻¹ مع قاعدة مصححة بين 1830-1580 سم⁻¹ ، تعطي نسبة أحادي تربين بقيمة 46%.

استخدام الطيف المشتق من الطيف المباشر عند 1732 سم⁻¹ يسمح بتحديد خاص لأحادي تربين كربونيل بصيغة كيتون لمستخلص الكروية ، ولهذا نستعمل الجزء الأيسر من الطيف المشتق عند 1732 سم⁻¹ ، النسبة المتحصل عليها هي 39% مسيطرا بهذا على جزء احادي كربون بنسبة 81%.

بمقارنة النتائج المتحصل عليها مع الزيت المستخلصة من الكروية باستعمال الكروماتوغرافيا الغازية المزودة مع مطيافية الكتلة تظهر الترابط المنطقي للقيم الموجودة.

الكلمات المفتاحية :

كروية، مستخلص، تربين كربونيل، كرفون، الكروماتوغرافيا الغازية مزودة مع مطيافية الكتلة، القياس الطيفي بالأشعة الحمراء لتحويل فوريي و الطيف المشتق .

REMERCIEMENTS



Les recherches qui font l'objet de ce mémoire ont été menées au sein du laboratoire de : *Chimie des substances naturelles, de l'Université de SAAD DAHLAB de BLIDA*, dirigées par Mr **EL-HATTAB Mohamed**, Maître de conférences.

Je tiens particulièrement à le remercier, pour m'avoir accueilli dans son groupe, pour m'avoir fait confiance. Son dynamisme pour la recherche des produits naturels a été pour moi une source de motivation. Vous m'avez constamment guidé au cours de mes études, aidé par vos connaissances, vos précieux conseils. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Professeur Y. DAGHBOUCHE, je vous remercie pour avoir dirigé ce travail. Je tiens à manifester ma reconnaissance pour la confiance que vous m'avez accordée, votre disponibilité, et vos encouragements. Votre rigueur et votre façon de travailler et surtout pour votre patience dans la correction de ce mémoire. Vous avez mon respect et toute mon admiration.

Un grand merci à Madame **N. BOUZIDI**, Maître de conférences à l'université de BLIDA, de m'avoir encouragé et conseillé tout en me laissant une grande liberté, pour son soutien et sa grande générosité. Je tiens à vous exprimer ma profonde reconnaissance pour votre aide dans tous les moments où j'en avais besoin, je le remercie également d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Je remercie sincèrement Madame **O. MOHAMMEDI**, professeur à l'université de BLIDA pour le grand honneur qu'elle fait en présidant le jury de mémoire. Merci pour avoir accepté de juger mon travail.

J'adresse également mes remerciements à Madame **N. SAIB BOUCHENAFE** Maître de conférences à l'Université de BLIDA pour avoir accepté de faire partie de mon jury.

J'aimerais encore remercier Monsieur **S. D. YAHIAOUI** docteur à l'université de BLIDA pour son aide inestimable et pour sa gentillesse. Merci, parce que vous m'avez accordé un peu de votre temps pour toutes les discussions scientifiques que l'on a pu avoir, et surtout pour vos conseils.

Je tiens également à remercier tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

DEDICACES

✱ *Je dédie ce travail à ...* ✱

A mon cher Père

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A ma très chère mère

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon très cher frère Abdellah, son épouse Warda

Mon cher frère qui m'est le père et la mère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte.

A mon très cher frère Omar, son épouse Samira et leur petit Bady; mes frères Hocine et Mohamed, je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

A mon très chère frère Ali, son épouse et leurs enfants Anfel, Marwa et Midou

A ma très chère sœur Meriem, son mari Samy

Malgré la distance, vous êtes toujours dans mon cœur.

A mes chères tantes (Mouna, Fatma, Halima et Amina), Votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au long de mon travail.

A ma très chère amie Lola, son fiancé

Ma princesse, tu es très belle, trop charmante et toujours chic.

A ma très chère amie Sara

Ma mère, tu es très belle, très gentille, trop calme et toujours présente pour les bons conseils.

A ma chère Bassouma

Toujours vivantes, contente et sympathique.

A mes collègues de labo

Boubekeur, Réda, Asmoucha, Soraya, Amira, Zahida, Nassima, Hanane M, Hanane Z, Karima et Djaouida, Pour les moments inoubliables qu'on a passé ensemble.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Chapitre II: Etude chimique de l'huile essentielle de carvi

II.1. Préparation de l'huile essentielle	27
II.2. Caractéristique organoleptique et indice physico-chimique	29
II.3. Analyse de l'huile essentielle de carvi par CG/SM	29
II.3.1. Condition opératoire	29
II.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de carvi	30
II.3.3. Taux des produits carbonyles dans l'huile essentielle de carvi	32

Chapitre III: Dosage de la fraction monoterpénique carbonyle par spectrométrie infrarouge à transformé de fourier

III.1. Préparation de l'extrait	36
III.2. Identification de la carvone dans le carvi par CCM	37
III.3. Dosage de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi par spectrométrie IRTF	37
III.3.1. Instrumentation et réactif	37
III.3.2. Résultats et discussions	39
Conclusion générale	51
Annexe	54
Références bibliographiques	57

Liste des figures

Figure I.1. Méthyl -2- buta -1,3- dienne	11
Figure I.2. Différentes classes de monoterpènes	13
Figure I.3. Structure de la carvone R et S	15
Figure I.4. Structure du camphre	16
Figure I.5. Photo de la plantes de carvi	19
Figure I.6. Photo des graines de carvi	19
Figure II.1. Montage d'hydrodistillation utilisé pour la préparation de l'HE de carvi	27
Figure II.2. Protocole de préparation de l'HE à partir de la matière végétale	28
Figure II.3. Composition chimique globale de l'HE de carvi	32
Figure II.4. Composition chimique de la fraction carbonyle de l'HE de carvi	34
Figure III.1. Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale	36
Figure III.2. Identifacation de la carvone par CCM	37
Figure III.3. Montage de flux utilisé pour les différentes analyses	38
Figure III.4. Spectre d'absorbances IRTF de la carvone (10 mg/ml) préparée dans CH ₂ Cl ₂ stabilisé avec l'amylène	40
Figure III.5. Spectre IRTF de la carvone (10 mg/ml) et d'extrait de carvi (20 mg/ml) dans CH ₂ Cl ₂	41
Figure III.6. Spectre d'absorbance d'une série d'étalons de la carvone préparée dans CH ₂ Cl ₂ pour un domaine de concentration compris entre 0.75 et 10 mg/ml	42
Figure III.7. Spectre infrarouge de la carvone (10 mg/ml) et d'extrait de carvi (20 mg/ml) diluée dans CH ₂ Cl ₂	43
Figure III.8. Spectres infrarouge dérivés d'une série d'étalons de la carvone préparé dans CH ₂ Cl ₂	45
Figure III.9. Spectre dérivé d'une série d'étalons de la carvone et d'extrait de carvi préparé dans CH ₂ Cl ₂	46
Figure III.10. Spectre dérivé d'une série d'étalons du camphre et d'extrait de carvi préparé dans CH ₂ Cl ₂	48

Liste des tableaux

Tableau II.1. Propriétés physico-chimiques de l'HE	29
Tableau II.2. Composition chimique de l'HE de carvi obtenue par CG-SM	30
Tableau II.3. Taux des différentes classes de produits carbonyles dans l'HE de carvi	33
Tableau III.1. Caractéristiques analytiques de la carvone dans CH ₂ Cl ₂	42
Tableau III.2. Caractéristiques analytiques de la carvone préparée dans CH ₂ Cl	45
Tableau III.3. Taux de la fraction monoterpénique carbonyle dans le carvi en utilisant le spectre dérivé	46
Tableau III.4. Caractéristiques analytiques du camphre préparée dans CH ₂ Cl ₂	48

Liste des abréviations

IRTF: Infrarouge à transformé de Fourier

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

CLHP: Chromatographie liquide à haute performance

CCM: Chromatographie sur couche mince

HE: Huile essentielle

CH₂Cl₂: Dichlorométhane

µm: Micromètre

cm: Centimètre

mm: Millimètre

nm: Nanomètre

%: Pourcentage

t_r: Temps de rétention

L.B: Ligne de base

INTRODUCTION GENERALE

L'homme et les plantes vivent côte à côte depuis toujours. Il est habitué à consommer et à digérer différentes espèces de plantes, qui sont bien souvent appréciées pour leurs qualités aussi bien médicales que nutritives. Depuis longtemps, les hommes apprécient les vertus apaisantes et analgésiques des plantes [1].

Aujourd'hui, les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car la phytothérapie propose des remèdes naturels bien acceptés par l'organisme. L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes. Une plante n'est pas une recette magique dotée d'une action unique, mais un ensemble complexe de principes actifs qui ont une influence sur les différents systèmes de régulation du corps. En associant la recherche scientifique sur les constituants actifs, l'observation clinique et la connaissance traditionnelle des plantes, il est possible de dresser un inventaire de leurs usages thérapeutiques [1].

Au début, la manipulation des plantes était de manière presque instinctive, l'homme a appris par la suite à en faire des tisanes, décoctions, et autres infusions jusqu'à arriver à en extraire des huiles essentielles.

De nombreux paramètres entrent en jeu dans la qualité thérapeutique et nutritive des huiles essentielles ou des extraits en général:

- La sélection correcte de l'espèce et de la variété botanique;
- L'origine géographique de la plante;
- Le mode et la saison de culture et de récolte;
- Le stade de développement végétatif de l'espèce ou la partie de la plante que l'on distille;
- Les conditions d'extraction et de stockage.

Les différentes études, ciblées sur un de ces paramètres, ont été réalisées en déterminant la composition chimique des extraits, fort diverses, dont dépendent les propriétés de l'essence.

La méthode d'analyse des extraits la plus fiable et la plus complète est la chromatographie en phase gazeuse. Cette méthode d'analyse s'adapte plus particulièrement aux substances volatiles, comme les molécules aromatiques. Cette analyse donne une véritable carte d'identité de l'extrait et permet de définir son profil caractéristique et sa spécificité biochimique.

Beaucoup de travaux ont déterminé la composition chimique en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) en mentionnant les composants majoritaires suivis des composants minoritaires spécifiques et permettant ainsi de mettre en évidence tout problème qualitatif dû à une mauvaise fabrication ou un mauvais stockage ou encore déceler toutes les fraudes éventuelles.

Il demeure évident que tout échantillon est donc unique, car il suffit que l'un varie vis-à-vis de l'autre pour que le problème analytique connu avant se transforme en un « nouveau à priori inconnu » et de ce fait, la mise au point de nouvelles méthodes d'analyse appropriées, rapide et extrêmement spécifique, pour le dosage d'un grand nombre de substances, est indispensable et toujours nécessaire pour les chercheurs travaillant sur l'optimisation des différents paramètres cités ci-dessus.

Notre travail s'intègre à ce large domaine de recherche. Il contribue au développement des applications analytiques quantitatives de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier. Il offre un outil d'analyse complémentaire, surtout disponible, facile à manipuler et rapide aux chercheurs travaillant dans les différents domaines cités ci-dessus.

Un spectre d'absorption infrarouge, même celui d'une molécule organique relativement simple, comporte souvent un nombre déroutant de pics, d'où le dosage d'un produit d'une matrice complexe. Cette technique nécessite un traitement préalable d'isolement, de séparation ou de purification.

L'objectif de ce travail est de proposer une analyse quantitative d'un produit majoritaire de l'extrait végétal sans aucun traitement préalable de ce dernier. Pour éliminer l'effet matrice deux alternatives sont considérées; la première concerne l'utilisation d'une bande spécifique et la deuxième examine les possibilités que peut offrir le spectre dérivé.

Cette idée est exploitée pour la détermination de la fraction monoterpénique carbonyle (analysée globalement sous forme de carvone) de l'extrait de carvi. La carvone constitue le produit majoritaire de l'extrait de carvi, ce qui permet l'analyse directe sans traitement préalable par spectrométrie IRTF; et le constituant majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle ce qui fait d'elle l'étalon adéquat pouvant représenter cette classe de produits chimiques.

Le présent travail sera présenté comme suit :

Dans le premier chapitre, il est de l'état des connaissances bibliographiques botaniques et phytochimiques sur le genre et leur famille botanique, aussi nous avons abordé un aperçu général sur les composés terpéniques, notamment, la carvone et le camphre.

Dans le deuxième chapitre, sera étudiée la composition chimique de l'huile essentielle de carvi, obtenue par hydrodistillation et analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Le taux de la fraction monoterpénique carbonyle trouvé sera pris comme référence pour les différentes déterminations par spectrométrie IRTF.

Le troisième chapitre est consacré à la description du protocole expérimental du dosage quantitatif de la fraction monoterpénique carbonyle et cétonique (analysées sous forme de carvone) par spectrométrie IRTF sans traitement préalable de l'extrait de carvi. A la fin de ce chapitre, nous avons testé le camphre comme étalon pour la détermination de la fraction monoterpénique carbonyle.

Enfin, nous terminons par une conclusion générale qui portera les différents résultats obtenus.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités

L'utilisation des plantes en médecine empirique ont souvent été à l'origine de recherches scientifiques de haut niveau. Dans la plupart des cas, ces recherches aboutissent à la découverte de substances originales présentant un intérêt thérapeutique considérable. La pharmacie industrielle jouit largement de ces molécules isolées, purifiées puis utilisées par la médecine conventionnelle; mais les plantes (source de ces molécules) étaient et sont toujours utilisées avec succès en phytothérapie et en aromathérapie sous diverses formes. Ces médicaments ont de plus en plus la considération du public et des médecins. Les plantes soignent ou contribuent à guérir, parfois très rapidement, non seulement la fatigue, l'insomnie, les maux de tête, la grippe, la toux, les rhumatismes, mais aussi d'autres maladies [2].

Les épices et aromates possèdent souvent des propriétés médicinales connues depuis des temps immémoriaux. Ils ont représenté l'essentiel de la pharmacopée pendant des millénaires.

L'histoire des applications thérapeutiques des épices et aromates a suivi un schéma parfaitement classique :

- Utilisation traditionnelles des plantes dans des préparations pour inhalation, tisanes, etc., encore souvent employées aujourd'hui ;
- puis mise au point d'extrait présentant des propriétés accentuées ;
- puis développement d'analogues synthétiques et de dérivés plus efficaces, largement utilisés dans la pharmacie moderne [3].

Les épices et les herbes aromatiques peuvent se définir de façon générale comme des produits d'origine végétale utilisés dans notre alimentation pour assaisonner les plats ; ils apportent une saveur originale à la préparation culinaire, et sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table [3].

Les distinctions entre les épices, les condiments, les aromates et les fines herbes sont assez subtiles. Les épices proviennent d'une seule origine végétale, par exemple: le poivre, fruit séché du poivrier. Ce sont les plus importantes économiquement. D'autres substances ajoutées pour relever la saveur des aliments portent le nom de condiments lorsque leur origine n'est pas végétale (le sel), ou lorsqu'elles sont constituées d'un mélange d'épices, d'herbes aromatiques ou d'autres ingrédients (la moutarde, mélange de graines de moutarde, de vinaigre et de sel). Le goût des condiments et des épices peut être salé (chlorure de sodium), doux (sucre, miel), acide (vinaigre, citron), anisé (badiane, estragon, fenouil), âcre (oignon, ail), piquant (piment, poivre). Certains ont un pouvoir colorant comme le paprika ou le safran. Quant aux termes d'aromates ou de fines herbes, ils désignent plutôt les plantes herbacées dont on utilise les feuilles en cuisine sous forme fraîche ou séchée [4]

Le *carvi* ou *carum* venant du nom arabe karâwiyâ qui signifie « racine à sucre » est aussi désigné par le nom « *anis des prés* ». Il a une saveur âcre et piquante, moins forte que celle du cumin mais plus prononcée que celle de l'aneth. Ses graines sont utilisées en cuisine, mais elles donnent également une huile essentielle qui possède des vertus intéressantes [5]. Il est connu depuis des siècles puisqu'on retrouve sa trace dans l'Égypte ancienne.

Au printemps, il présente de nombreuses petites fleurs blanches en forme d'ombelle. Les fleurs donnent ensuite naissance à des graines, qui produisent une épice connue. Mais en fait tout se consomme dans l'anis des prés. Les feuilles aromatisent les salades et les légumes. Les graines sont utilisées pour parfumer de nombreux plats salés et des pâtisseries et fait également partie des plantes médicinales grâce à ses propriétés digestives. C'est une plante herbacée bisannuelle qui se cultive facilement en pot ou en pleine terre dans toutes les régions. Il renferme des sels minéraux, des oligoéléments et plus particulièrement du calcium, du phosphore et du potassium. Les feuilles contiennent plus de vitamines que les graines [6].

Les graines de carvi contiennent entre 2,5 et 4,5 % d'huile essentielle. Le carvi annuel produisant moins d'huile essentielle que la plante bisannuelle, il est jugé de moindre qualité. Le marché de l'huile de carvi a souffert récemment du fait qu'il est actuellement possible de synthétiser la carvone, son constituant principal [7].

Une huile essentielle est une essence concentrée qui est odorante et volatile, provenant de plantes aromatiques que l'on extrait par divers moyens et les recueille sous forme liquide et volatile. La composition des huiles essentielles est très complexe. Terpènes, aldéhyde, cétones, phénol, lactones, esters, en sont les composants principaux. Les huiles essentielles sont solubles dans l'huile et dans l'alcool, mais pas dans l'eau [8].

Les huiles essentielles sont composées de molécules aromatiques, dont les caractéristiques et les proportions vont déterminer les effets et les parfums des huiles qui les contiennent. Si certaines de ces molécules sont sans danger d'utilisation, d'autres présentent, à côté de leurs effets bénéfiques, des effets secondaires dont il faut apprendre à se méfier. Par exemple, les cétones, que l'on trouve notamment dans les huiles essentielles de menthe poivrée ou de romarin à camphre, sont neurotoxiques et abortives à forte dose, ou lors de prises répétées [9].

I.1.1. Terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures non azotés, très réactifs. Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc.). Ils n'ont pas une fonction universelle et sont différemment représentés dans les différentes familles, dans les genres et espèces. Ils font partie des métabolites secondaires des plantes et particulièrement des composés organiques volatils.

Les métabolites secondaires représentent une diversité chimique très importante. Ils permettent à la plante de se défendre face aux facteurs de stress biotiques et abiotiques, qui constituent des signaux chimiques à travers lesquels la plante communique avec son environnement [10]. Ainsi, les terpénoïdes possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination, mais aussi lors des interactions végétal-animal, comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes [11].

Les terpénoïdes sont les constituants majeurs d'huiles essentielles où la plupart d'entre eux constituent le principe odoriférant des végétaux. Cette odeur est due à la libération des molécules très volatiles contenant 10, 15, et 20 atomes de carbone [12].

I.1.1.1. Règle isoprénique

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) (figure I.1) reconnue par Wallach dès 1887. Cet isoprène est à la base du concept de la "règle isoprénique" énoncée en 1953 par Lynen et Ruzicka et complétée par Bloch et al. [12].

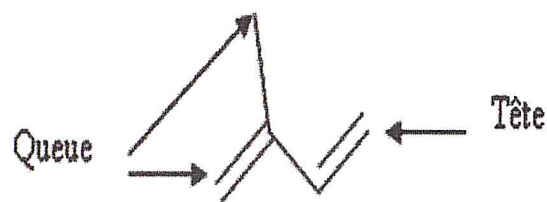


Figure I.1: méthyl-2-buta-1,3-dienne (C_5H_8)
(Squelette d'une unité isoprénique)

Les divers squelettes terpéniques sont classés par le nombre de chaînons isopréniques qui les composent:

- * monoterpènes ($C_5 \times 2$)
- * sesquiterpènes ($C_5 \times 3$)
- * diterpènes ($C_5 \times 4$)
- * triterpènes ($C_5 \times 3$) + ($C_5 \times 3$)
- * tétraterpènes ($C_5 \times 4$) + ($C_5 \times 4$)

I.1.2. Monoterpène

C'est le constituant le plus simple de la série des terpènes, il est issu du couplage de deux unités isopréniques (10 atomes de carbone) [13]. Il est volatil, entraîné à la vapeur d'eau, d'odeur souvent agréable et représente la majorité des constituants des huiles essentielles. On peut trouver des monoterpènes dans plus de deux mille plantes de soixante familles différentes [14].

I.1.3. Classification des monoterpènes

Plus de 900 monoterpènes connus se trouvent principalement dans trois catégories structurales: les monoterpènes linéaires (acycliques), les monoterpènes avec un cycle unique (monocycliques) et ceux avec deux cycles (bicycliques). Ils résultent d'une fusion typique tête-à-queue des unités isopréniques. Au sein de chaque catégorie, il peut y avoir des substances appartenant aux différentes classes de produits chimiques comme l'illustre la figure I.2 (voir annexe).

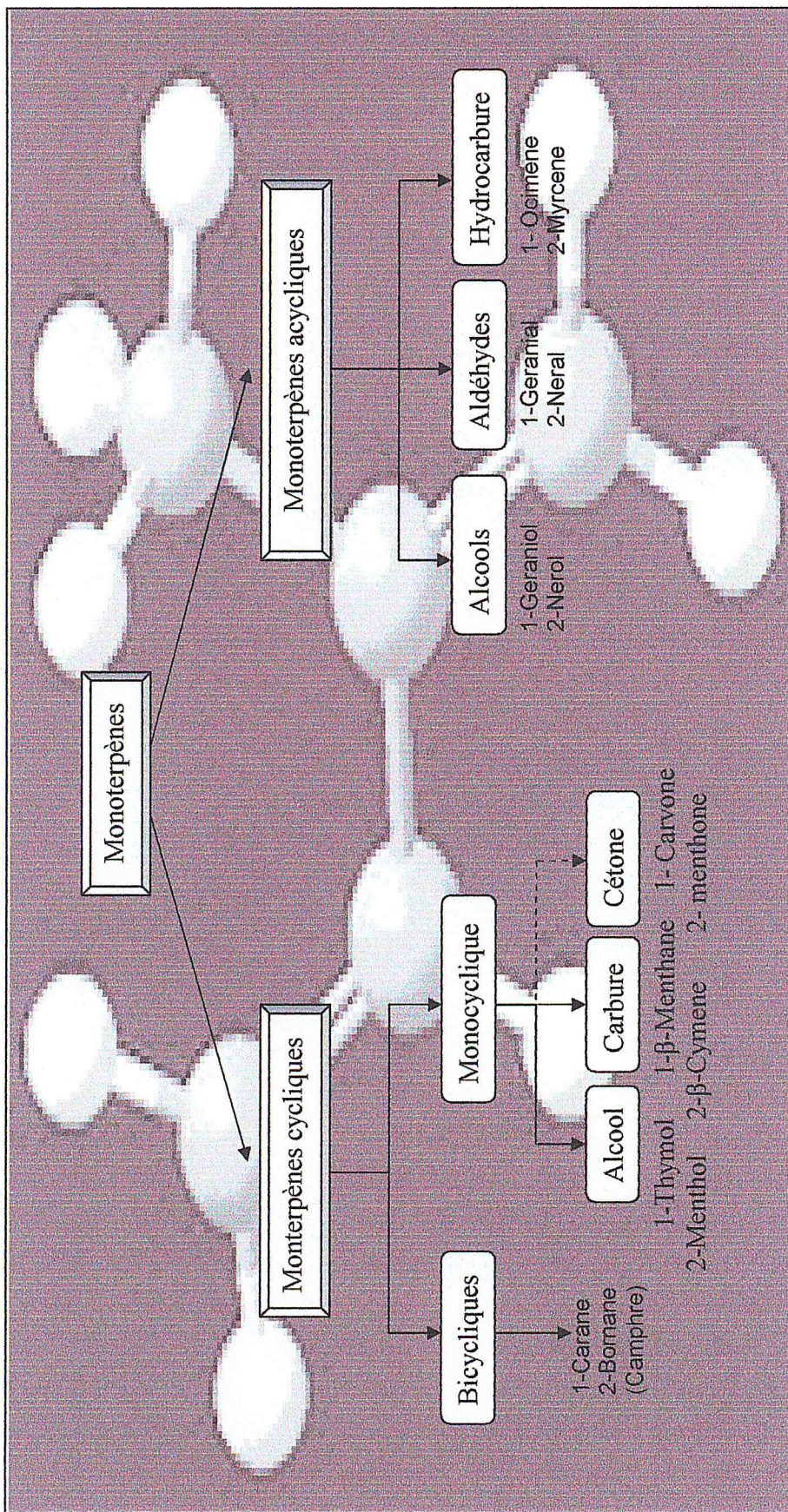


Figure I.2 : Différentes classes de monoterpènes [15]

*Les lignes en pointillé ont été ajoutées par rapport à la référence [15].

I.1.3.1. Monoterpènes carbonyle cétoniques

Dans cette classe on trouve les cétones qui sont des molécules très actives et rapidement toxiques. Il faut donc les utiliser avec prudence et discernement. Les cétones fluidifient les mucosités, les graisses et le sang. Elles sont également cicatrisantes et régénérantes du tissu cutané [16].

Les cétones sont difficiles d'emploi, car ils ont un effet d'inversion. A faible dose, elles sont calmantes et sédatives. Lorsqu'on augmente les doses ou si les doses sont répétées, elles deviennent toxiques pour le système nerveux, stupéfiants et peuvent entraîner des crises comitiales. Les cétones sont totalement interdites à la femme enceinte et allaitante, à l'enfant de moins de 10 ans et aux personnes âgées, dont le système nerveux est fragile [16].

Nous nous intéressons à deux monoterpènes cycliques carbonyle ayant une fonction chimique cétone: la carvone appartenant à la catégorie des monoterpènes monocycliques et le camphre appartenant à la catégorie des monoterpènes bicycliques.

A. Carvone

La carvone (2-méthyl-5-(1-méthyléthényl)-2-cyclohexén-1-one) ($C_{10}H_{14}O$) est un liquide incolore ou jaune pâle, ayant une température d'ébullition de $230^{\circ}C$. La molécule de carvone appartient à la famille des terpènes, classe des monocyclique. Elle possède un carbone asymétrique. Elle existe donc sous deux formes: les *énantiomères* ayant les mêmes propriétés chimiques et physiques et qui ne diffèrent que par leur pouvoir rotatoire (Figure I.3).

La R-carvone (L-carvone) (lévogyre) est le constituant majeur des essences de menthe verte. La S-carvone (D-carvone) (dextrogyre) est présente dans les graines de carvi. Un fait assez rare parmi les énantiomères volatils, est que les deux molécules possèdent une odeur différente alors que leur structure chimique est rigoureusement la même. Ceci montre que les récepteurs olfactifs de l'homme sont sensibles à la chiralité des molécules [17].

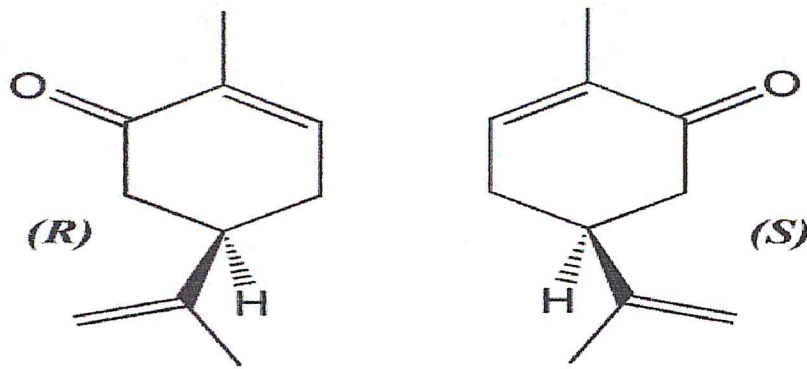


Figure I.3: Structure de la carvone R et S.

A.1. Historique

Dans l'antiquité, les Romains ont utilisé le carvi pour des buts thérapeutiques, mais la carvone n'a été isolée qu'en 1881 par Varrentrapp. Après l'avoir appelée carvol, Schweizer, Goldschmidt et Zurrer l'ont identifié comme cétone liée au limonène. C'est Georg Wagner qui en a précisé sa structure en 1894 [18].

A.2. Propriétés physico-chimique

Nom systématique : 2-méthyl-5-(prop-1-en-2-yl) cyclohex-2-enone

Formule moléculaire : $C_{10}H_{14}O$

Poids moléculaire : 150.22

Description générale

Aspect : Incolore ou liquide jaune-clair

Odeur : Odeur caractéristique de cumin

Propriétés physico-chimique

densité ~ 0.960

Indice de réfraction ~ 1.499

Solubilité : éthanol du 1:3 70%

Solubilité dans l'eau : insoluble (froid) légèrement soluble (chaud)

Point d'ébullition : 231 °C

A.3. Utilisations

- Alimentation: la carvone a été employée depuis des milliers d'année dans l'alimentation, en raison de son arôme de cumin, d'aneth et de menthe verte, en particulier dans le chewing-gum Wrigley.
- Agriculture: L'application technique la plus importante de la molécule de carvone est son utilisation comme inhibiteur répressif de la germination dans les pommes de terre [19, 20].
- Très utilisée comme inhibiteur de croissance des bactéries [21], de quelques mycètes [22] et comme répulsif d'insectes [23].
- Ce produit chimique est utilisé dans la pâte de dentifrice et dans la parfumerie.
- Des huiles contenant des carvones sont employées dans le domaine de la médecine alternative.
- La carvone a des propriétés antispasmodiques, elle est aussi un actif détoxifiant hépatique puissant (particulièrement au niveau du foie) [24].

B. Camphre

Le camphre est un composé organique bicyclique aromatique (Figure I.4) solide en forme des grains blancs très parfumés, substance concrète, blanche et demi-transparente, d'une odeur très forte, d'une saveur amère et brûlante, qu'on extrait de certains végétaux. C'est une cétone à partir de laquelle on synthétise le bornéol et le camphène. Il est insoluble dans l'eau, il est soluble dans les solvants organiques [25].

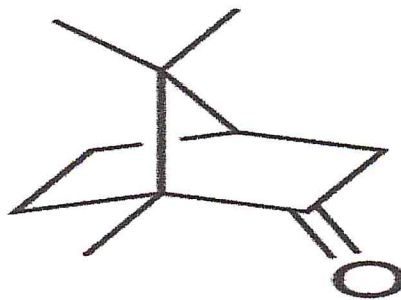


Figure I.4: Structure du camphre

B .1. Historique

Le nom vient du latin médiéval *camfora*, provenant de l'arabe *kafur*, du nom malais *kapur Barus* qui veut dire "craie de Barus". Les marchands malais qui vendaient le camphre aux négociants venus d'Inde et du Moyen-Orient l'appelaient kapur à cause de sa couleur blanche. Barus était le port sur la côte ouest de l'île indonésienne de Sumatra où les marchands étrangers venaient acheter le camphre [25].

B .2. Propriétés physico chimique

Nom systématique: *1, 7, 7- triméthylbicyclo [2, 2, 1] heptan-2-one*

Formule moléculaire: $C_{10}H_{16}O$

Poids moléculaire: 152,23

Description générale

Aspect : *blanche et demi-transparente*

Odeur : *très forte, d'une saveur amère et brûlante*

Propriétés physico-chimique

densité ~ 0,992

T°d'ébullition : 204 °C

T° fusion : 180 °C

B .3. Utilisations

- L'usage du camphre était principalement médical, ses vertus sont nombreuses : antispasmodique, stimulant cardiaque, il est apprécié aussi pour son action sur le système nerveux, pour guérir les fièvres continues et intermittentes, voire comme agent de prévention général [26].
- On l'utilise (dilué dans de l'huile végétale, et avec précaution sur la peau car il devient toxique à hautes doses) en frictions le long de la colonne vertébrale ou sur les zones douloureuses. On l'utilise aussi en massage (thorax, dos, et en cas de problèmes respiratoires) [27].

- Le camphre est renommé pour ses propriétés antiseptiques, anti-infectieuses et anti-virales, c'est un puissant antalgique, un analgésique, un anti-inflammatoire, un tonique général, un stimulant respiratoire. Il agit contre les douleurs rhumatismales, les douleurs musculaires et même contre les migraines [27].

I.1.4. Espèce étudiée

Dans ce travail, le choix a été porté sur le carvi du fait que sa fraction monoterpénique carbonyle est riche en carvone, standard utilisé lors de la détermination par spectrométrie IRTF.

I.1.4.1. Noms communs

Nom latin : *Carum carvi*

Noms usuels : *Cumin des prés, Anis des Vosges, Cumin des montagnes*

Nom arabe: *Karāwiyā (كروية)*

Famille : *Apiaceae (Ombellifères)*

I.1.4.2. Histoire

Le carvi est originaire d'Asie ainsi que du nord et Europe centrale. D'abord utilisé dans l'Antiquité, le carvi est cultivé en Europe depuis le Moyen Age. Preuve de l'usage du carvi à l'époque médiévale provient de graines trouvées dans les débris dans les lacs en Suisse. Il existe plusieurs cultivars que l'on fait pousser en Inde, au Moyen-Orient, en Europe et aux États-Unis. Le carvi pousse à l'état sauvage dans toutes les provinces du Canada. Dans le carvi, on trouve divers composés chimiques y compris des protéines, de l'oxalate de calcium, de la résine et une huile essentielle [28].

I.1.4.3. Description

La graine est d'environ 1/5 inch¹ long et effilé aux extrémités (figure I.5).

L'anis des prés est une bisannuelle facile d'entretien que l'on cultive en pleine terre mais qui tolère également une culture en pot. Au printemps, il présente de nombreuses petites fleurs blanches en forme d'ombelle (figure I.6). Les fleurs donnent ensuite naissance à des graines, qui produisent une épice connue. Mais en fait tout se consomme dans l'anis des prés. Il a un arôme léger, citronné et anisé. Les feuilles aromatisent les salades, les crudités et les légumes. Les graines sont utilisées pour parfumer de nombreux plats salés et des pâtisseries. Les racines, semblables à des mini-panais, se cuisinent également à la manière des carottes, et possèdent un arrière-goût.

L'anis des prés fait également partie des plantes médicinales et principalement grâce à ses propriétés digestives [29].



Figure I.5: photo de la plante de carvi



Figure I.6: photo des grains de carvi

¹ 1 inch = 2.54 cm

I.1.4.4. Utilisations

- Culinaires: les graines sont employées avec la choucroute, le fromage, les pains, les gâteaux et de nombreux autres mets; on ajoute les pousses et les feuilles aux plats de légumes et aux salades; on mange les racines comme légumes; l'huile essentielle sert à parfumer les bonbons, le gin, les viandes et les crèmes glacées.
- Industrielles: l'huile essentielle est utilisée pour parfumer les bains de bouche et les savons odorants ainsi que les lotions après-rasage [28].
- Médicinales: le fruit du carvi et l'huile de carvi que l'on en tire sont utilisés dans la médecine contre le manque d'appétit. Les graines, qui sont récoltées d'août à octobre pour être séchées ensuite à l'ombre, facilitent la digestion et stimulent l'appétit si on les mâche telles quelles ou après les avoir fait macérer. Les graines de carvi facilitent la digestion des plats gras ou qui ballonnent, elles soulagent en outre les crampes d'estomac et les coliques des organes digestifs. Quelques gouttes d'huile de carvi sur un sucre aident à lutter contre les maux de tête et la migraine [30].

I.1.5. Procédés d'extraction utilisés

I.1.5.1. Hydrodistillation

L'hydrodistillation est une méthode d'extraction dont le rôle est d'entraîner les composés volatiles des produits naturels avec la vapeur d'eau. On porte à ébullition un mélange eau plus végétal : les cellules du végétal éclatent et libèrent alors des espèces chimiques odorantes qui (non solubles dans l'eau) sont entraînées par la vapeur d'eau puis récupérées dans un autre récipient après condensation dans le réfrigérant. L'hydrodistillat obtenu contient une phase aqueuse ainsi qu'une phase organique constituée par l'huile essentielle [31].

I.1.6. Techniques d'analyse utilisées dans les différentes déterminations

La valeur d'une huile essentielle dépend de ces qualités organoleptiques. Certains nombres caractéristiques appelés « Indices » ont été normalisés au sein d'organisations spécialisées ; citons quelques unes:

AFNOR : Association française de normalisation.

EOA: Essentiel oils association.

ISO : International standard organisation.

Les normes publiées périodiquement servent de références dans les relations commerciales, sur la confirmité de cette huile essentielle. Ces indices physiques et chimiques sont :

- La densité
- Indice de réfraction
- Indice d'acidité

Les techniques de choix utilisées dans l'analyse des huiles essentielles et autres extraits sont :

- Spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (IRTF)
- Chromatographie sur couche mince (CCM)
- La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM)

I.1.6.1. Spectroscopie infrarouge

La spectrophotométrie infrarouge, est l'outil le plus utile pour le chercheur scientifique, (chimiste, biologiste, médecin ou autre) dans l'analyse structurale, qualitative et quantitative. A l'heure actuelle, on assiste à un développement considérable et extrêmement évolué dans ce domaine pour faire face aux besoins toujours plus spécifique vis-à-vis des problèmes écologiques, économiques et sociaux. Des mesures de qualité fiables, rapides, économiques, avec le moins de préparation d'échantillon, de pollution et de risques sanitaires sont requises. Avec le développement des procédés industriels et l'augmentation de la production, de nombreux industriels s'orientent vers l'adoption de la spectroscopie infrarouge pour les analyses de routine et pour contrôler la matière première et le produit fini [32].

La région IR occupe une partie très importante du spectre électromagnétique entre 10-14000 cm^{-1} , due à sa grande extension et à la différence en application et instrumentation. Le domaine spectral IR est divisé en trois parties (IR lointain, moyen et proche) [33].

La spectroscopie infrarouge est basée sur l'interaction entre le rayonnement infrarouge et le matériau à analyser. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau [34].

Le spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est caractérisé par une grande sensibilité, une résolution élevée et un balayage très rapide du domaine spectral, (0.1-10 seconde). Cela permet d'accumuler un grand nombre de spectres afin d'améliorer le rapport signal/bruit et de coupler la spectrométrie IRTF avec diverses autres techniques d'analyse afin de doser des analytes dans des matrices très complexes [35].

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) [36], (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'un analyte permet d'identifier ce dernier sans aucun doute possible, car il n'existe pas deux composés de structure différente qui ont le même spectre IR (on parle "d'empreinte digitale" du composé) [37].

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 à une longueur d'onde spécifique et de s'assurer que les spectres sont enregistrés dans les conditions optimales ou de faire appel à des procédés de séparation ou de préconcentration [38].

L'analyse par spectrométrie IRTF peut être réalisée en trois modes de mesure: (1) mesure en mode statique (batch) où la cellule IR est, à chaque mesure, retirée de son compartiment pour un nettoyage ou 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 stop 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 [39].

I.1.7. Méthodes chromatographiques

I.1.7.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince repose principalement sur des phénomènes d'adsorption: la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants, qui progresse le long d'une phase stationnaire fixée sur une plaque de verre ou sur une feuille semi-rigide de matière plastique ou d'aluminium. Après que l'échantillon ait été déposé sur la phase stationnaire, les substances migrent à une vitesse qui dépend de leur nature et de celle du solvant.

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:

- La cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- La phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris), l'amidon ou un polymère organique.
- L'échantillon : environ un microlitre (μl) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.
- L'éluant : un solvant pur ou un mélange, il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon [40].

I.1.7.2. La chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est un instrument qui sépare les mélanges de produits chimiques (la composante CG) et identifie les composants au niveau moléculaire (le composant SM). Il est l'un des outils les plus précis pour l'analyse des échantillons de l'environnement. Le CG fonctionne sur le principe selon lequel un mélange se sépare en différentes substances lorsqu'elles sont chauffées. Les gaz chauds sont transportés à travers une colonne avec un gaz inerte (tel que l'hélium). Comme les substances séparées sortent de l'ouverture de la colonne, ils se jettent dans le SM. La spectrométrie de masse identifie des composés via la masse de la molécule d'analyte. Une «bibliothèque» des spectres de masse connue, couvrant plusieurs milliers de composés, est stockée sur un ordinateur [41].

I.1.8. Synthèse des travaux antérieurs réalisés sur la carvone et le camphre

Différents travaux ont été menés sur la carvone aussi bien dans le carvi que dans d'autres matrices :

Les différentes applications de la carvone comme parfum, saveur, inhibiteur de pommes de terre, agent antimicrobien, blocs de construction et biochimiques sur les indicateurs environnementaux, avec sa pertinence dans le domaine médical, à justifier l'intérêt porté aux monoterpènes [42].

Un rendement optimal de 4 % en huile essentielle du fruit sec de carvi a été atteint. Le taux de la carvone des différentes parties de la plante de carvi a été déterminé. Les résultats ont montré que pour la plante entière 56.17 %, la graine entière 53.10 %, et la graine broyée 34.00 % [43].

L'huile essentielle de carvi obtenue par hydrodistillation a été étudiée par CG et CG-SM. Les principaux composants de l'huile essentielle identifiés sont la (R)-carvone (37,98%) et le D-limonène (26,55%). Ces deux ont été séparés et purifiés par chromatographie sur colonne de gel de silice par chromatographie préparative sur couche mince. Il a été noté que la composition de l'huile essentielle de carvi varie selon l'origine de la plante [44].

La qualité et la quantité de l'huile essentielle de carvi semble être déterminé principalement durant les premiers stades du développement de la graine. Les efforts déployés pour améliorer le rendement de la carvone devrait donc se concentrer durant cette période [45].

Un test simple et rapide par CLHP est présenté pour l'analyse et la quantification des monoterpènes, à savoir, la carvone, le cinéole, le perillaldehyde dans l'alimentation des animaux de laboratoire. Les monoterpènes dans ces travaux ont été extraits de l'alimentation en utilisant du méthanol à 90% dans l'eau [46].

Le contenu de la carvone dans 2-5 g d'échantillons de graines de carvi entières a été déterminé par la spectrométrie proche et lointaine [47]. Il y a lieu de noter, que ce travail constitue la seule application de la spectrométrie infrarouge pour la détermination de la carvone dans une matrice végétale.

Dans la documentation utilisée, le camphre a été cité comme produit identifié dans la composition chimique de différentes matrices végétales étudiées [25], mais aucun travail n'a porté un intérêt particulier à cette substance.

De ce fait, l'objectif principal de ce travail est d'exploiter le potentiel d'informations qu'offre la spectrométrie infrarouge à transformé de Fourier pour la détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle contenu dans l'extrait de carvi et ce, sans traitement préalable des échantillons.

Chapitre II

Etude chimique de l'huile essentielle de carvi

Dans cette partie de notre travail, nous allons étudier la composition chimique de l'huile essentielle de carvi par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

II.1. Préparation de l'huile essentielle

L'huile essentielle est obtenue par une hydrodistillation (figure II.1).



Figure II.1: Montage d'hydrodistillation utilisé pour la préparation de l'HE de carvi

On porte à ébullition un mélange de 178 g de carvi et 800 ml d'eau, les cellules du végétal éclatent et libèrent alors les espèces chimiques odorantes qui sont entraînées par la vapeur d'eau puis récupérées dans un autre récipient après condensation à travers un réfrigérant. L'hydrodistillat traité par l'éther, donne deux phases, une organique qui contient l'huile essentielle et l'autre aqueuse. L'extraction liquide-liquide est réalisée trois fois afin de récupérer le maximum de l'huile essentielle. Les phases organiques sont mélangées en une seule phase puis filtrées à travers le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), pour éliminer toute trace d'eau, la phase organique obtenue est ensuite distillée à sec en utilisant un rotavapeur à 35 °C. L'huile essentielle obtenue est mise dans un flacon propre, pesé au préalable, et conservé au frais.

Le rendement en huile essentielle, défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la plante considérée initialement, est de 0.81 %. Cette valeur de rendement est faible au regard des résultats obtenus dans l'extraction des huiles essentielles à partir de cette épice.

Cette procédure est résumée sur l'organigramme de la figure II.2.

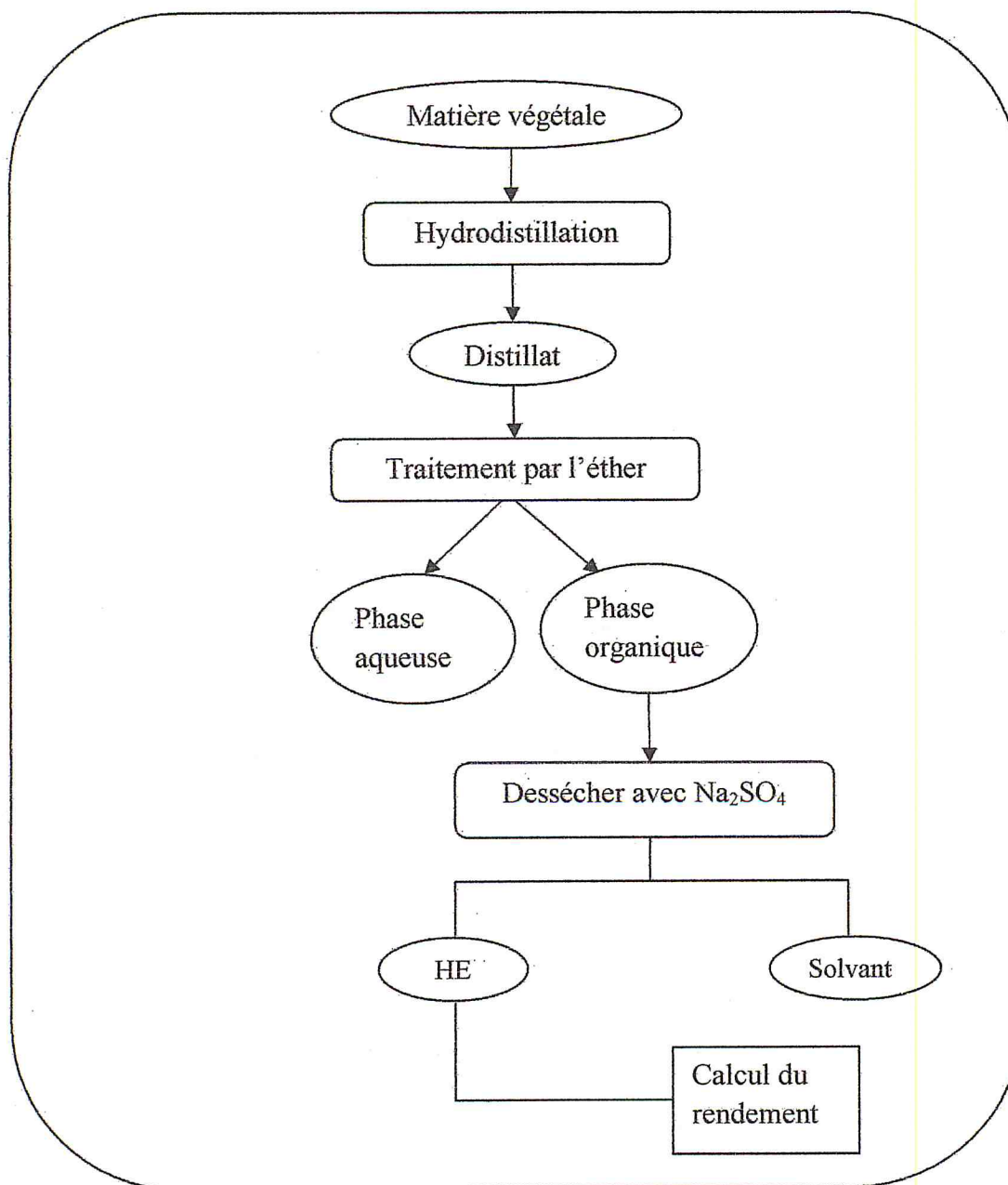


Figure II.2: Protocole de préparation de l'HE à partir de la matière végétale

II.2. Caractéristique organoleptique et indice physico-chimique

L'huile essentielle de carvi a un aspect peu visqueux, légèrement jaunâtre avec une saveur âcre et piquante.

Les valeurs des différentes propriétés physico-chimiques ont été déterminées et regroupées dans le tableau suivant II.1.

Tableau II.1 : Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle

Densité	Indice d'acidité	Indice de réfraction
0.87	0.4704	1.4595 à T=23.5 °C

II.3. Analyse de l'huile essentielle de carvi par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (CG-SM)

Cette étude représente une analyse qualitative des différents produits de l'huile essentielle de carvi. Une attention particulière est portée sur le taux des composés ayant le groupe fonctionnel carbonyle C=O à savoir: les cétones, les aldéhydes, les acides, les esters, et les acétates. L'intérêt de cette information pourra constituer un résultat préliminaire à l'analyse des produits carbonyle totaux de l'huile essentielle de carvi par spectrométrie IRTF.

II.3.1. Condition opératoire

L'analyse est effectuée sur un chromatographe HP-6890 couplé à un spectromètre de masse HP 5972, et soumise aux conditions suivantes :

- Une colonne capillaire de type HP1 (polydiméthylesiloxane 100%), de longueur 30m 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: 90(10min) à 210 (10min) à raison de 3°C/mn
- Injection en mode split : 1/90.

L'échantillon de l'huile essentielle est dilué dans l'AcOEt à 1 %.

L'identification est effectuée en se basant sur les banques de données spectrales de l'appareil (NBS 75k, Wiley 7n) ainsi que sur les données de la littérature concernant les produits purs isolés. Nous tenons à rappeler que NBS 75k est une banque comprenant les spectres de masse de 75000 molécules, celle de Wiley 7n comprend 250 000 molécules.

II.3.2. Composition chimique de l'huile essentielle de carvi

Tableau II.2: Composition chimique de l'huile essentielle de carvi obtenue par CG-SM

N°	Nom Systématique	Masse molaire	t _r	Taux(%)
1	Butanoic acid	88.05	3.981	0.082
2	7 methyl-3-methyleneoctadiene	136.13	4.253	0.034
3	Benzene-1-methyl-3-(1-methylethyl)	134.11	4.944	0.106
4	11-limonene/Cyclohexene,1-methyl-4-(1-methylethenyl).	136.13	5.137	0.532
5	Gamma terpinene/1,4cyclohexadiene,1-methyl-4-(methylethyl)	136.13	5.738	0.041
6	Furanmethanol,5-ethyltetrahydro-(α - α ,5-trimethyl,cis-	170.13	5.953	0.094
7	Linabool L	154.14	6.565	4.972
8	Bicyclo[3,1,1]hept-3-en-2-ol,4,6,6-trimethyl-[15-(1 α ,2 β ,5 α)]	152.12	7.188	0.106
9	1 β ,4,4-trimethyl-bicyclo(3,2,0) hept-6-en-2 β -ol	152.12	7.562	0.080
10	Bicyclo[2,2,1]heptan-2-one,1,7,7-trimethyl-,(15)	152.12	7.743	0.166
11	Trans -3-methylpent-3-ene-5-ol	100.09	8.933	0.107
12	[4,4,8,8d(4)]spiro[2,5]octan-6-one	128.11	8.990	0.058
13	Dihydrocarvone	152.12	9.228	2.021
14	Trans-(+)-varveol	152.12	10.304	0.589
15	2 cyclohexen-1-one-2 methyl-5-(1-methylethenyl)	150.10	11.12	41.533
16	1,2-Dimethylcyclopropene	68.06	11.823	0.188
17	1-phenyl-1-butanol	150.10	12.219	0.111
18	Trans-Anethol	148.09	12.344	0.177
19	Phenol, 2-methyl-5-(1-méthyléthyl)	150.10	13.081	0.325
20	2-cyclopenten-1-one	82.04	13.761	0.020
21	(1RS, 2RS, 3RS, 4RS)-1, 2, 3, 4-Diepoxy cyclo pentane	98.04	13.987	0.015
22	2-cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)	150.10	14.123	0.041
23	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)	164.08	14.882	1.501
24	(2Z, 4E)-hexa-2,4-dien-1-ol	98.07	15.755	0.011
25	2-octyn-1-ol	126.10	15.936	0.026
26	1,5-cyclooctadiene, (E, E)	108.09	16.299	0.038
27	Dihydrocarvyl	196.15	16.514	0.091

28	2-cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-propanoate	208.15	17.500	0.195
29	Trans-caryophyllene	204.19	17.999	0.070
30	α -Fenchene/Bicyclo [2, 2,1] heptane, 7, 7-dimethyl-2-methylene	136.13	18.611	0.156
31	2,6-Octadiene-1-ol, 3,7-dimethyl-acetate(Z)	196.15	19.404	0.041
32	1-(2,6-Dimethylbicyclo[4,3,0]non-1-en-7 β -yl)-1-propanone	206.17	20.673	0.083
33	Phenol,2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methyl-methylcarbamate	277.20	20.934	0.084
34	Cyclooctanol	128.12	21.421	0.030
35	Benzene,1,2,3-trimethoxy-5-(1-Propenyl)-,(E)	208.11	22.112	0.037
36	2,3,6,7-tetramethyl-9,10-bis(4-methylphenylsulfonyloxy)-1,4,4 α ,5,8,5 β	584.23	22.509	0.036
37	1-Propanamine,2-methyl	73.09	22.622	0.010
38	1-Methyl-2-propenyl methanoate	100.05	23.019	0.011
39	Boron, trihydro(N-methylmethanamine)	57.08	23.189	0.021
40	Acide dec-2-enoïque	170.13	23.551	0.026
41	(-)- Oxide caryophyllene	220.18	23.721	0.066
42	1-Allyl-2,3-dimethoxy-4,5-methylenedioxy benzene	222.09	24.832	4.069
43	Rel-(4R,5S,6S)-6-Acetyl-4,8,8-trimethyl spiro[4.4]nonan-1-one	222.16	25.920	0.015
44	Cis,cis-Di(2-oxabicyclo[3,1,0(1,3)]hexylether	182.09	26.237	0.046
45	1-propenyl-aziridine	83.07	26.554	0.023
46	Furan-tetrahydro-3-methyl-4-methylene	98.07	27.699	0.012
47	3-cyclohexen-1-carboxyldehyde,3-methyl	124.09	54.00	0.024
48	Acide tetradecanoïque	228.21	31.087	2.973
49	Acide hexadecanoïque	256.24	40.039	0.735
50	Acide 9-octadecenoïque	282.26	31.903	0.035
51	Phytol/Hexadecen-1-ol, 3, 7, 11, 15-tétraméthyl	296.31	44.198	14.90
52	Octadecane,1-chloro	288.26	51.711	1.163

L'examen du Tableau II.2 montre que la composition chimique de l'HE de carvi est dominée par les terpènes et leurs dérivés (35 %). Ces derniers sont sous forme de monoterpènes (carvone, camphre, limonène), sesquiterpènes (lancifolol), et de diterpènes (phytol).

La composition de l'huile essentielle révèle également la présence d'une série de composés oxygénés représentant (39 %). On note aussi la présence d'une fraction d'acides aminés représentant (4 %) et des composés aminés (4%). D'autres composés ont été également identifiés représentant (14 %). Ces composés oxygénés sont couramment rencontrés dans les huiles essentielles. La répartition des différentes classes chimiques de l'huile essentielle sont représentés par la figure II.3.

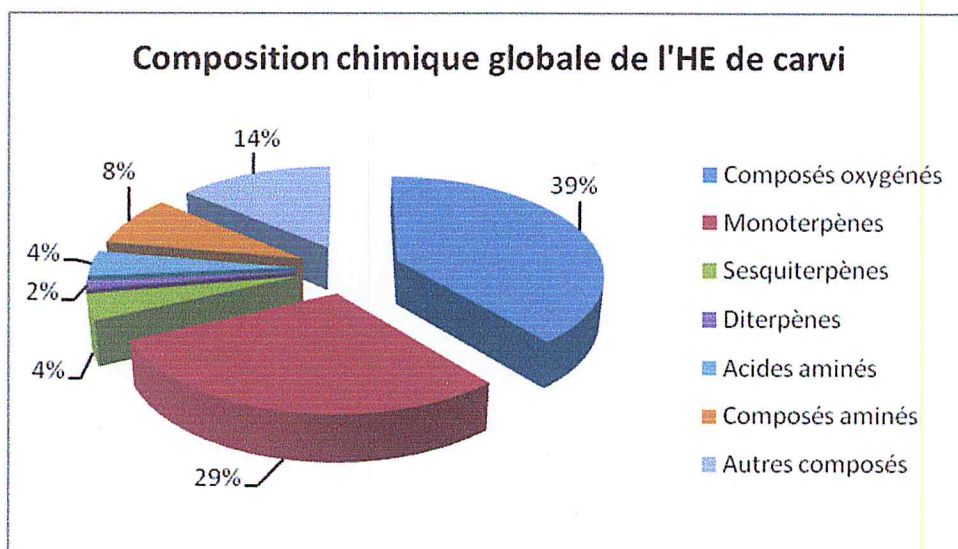


Figure II.3: Composition chimique globale de l'huile essentielle de carvi.

II.3.3. Taux des produits carbonyle dans l'huile essentielle de carvi

Une des perspectives de ce travail est la détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle de l'huile essentielle de carvi par spectrométrie IRTF puis approfondir l'étude pour préciser le type de standard pouvant être utilisé pour le dosage des monoterpènes carbonyle des huiles essentielles d'autre épices. De ce fait, il est important de savoir le taux des différentes classes de produits chimiques ayant le groupe fonctionnel carbonyle C=O.

Tableau II.3: Le taux des différentes classes de produits carbonyle dans l'huile essentielle de carvi

Classe	Analyte	Taux (%)
Cétone	Bicyclo [2, 2, 1] heptan-2-one-1,7,7-trimethyl (camphre)	0.166
	[4, 4, 8, 8, d(4)] spiro [2, 5] octan-6-one	0.058
	2 cyclohexan-1-one, 2methyl-5-(1-methylethenyl)(carvone)	41.533
	2 cyclopenten-1-one	0.020
	1-(2, 6)-dimethylbicyclo [4, 3, 0] non-1-en-7-béta-yl-1-propanone	0.051
	Dihydrocarvone	2.021
	Taux global des cétones	
Aldéhyde	3-cyclohexen-1-carboxyldehyde-3-methyl	0.024
Taux global des aldéhydes		0.024
Acide	Acide deca-2-noïque	0.026
	Acides tétra décanoïque	2.980
	Acide hexadécanoïque	0.735
	Acide 9-octadécanoïque (Z)	0.035
Taux global des acides		3.78
Ester	2cyclohexen-1-ol, 2 methyl-5- (1-methylethenyl) propanoate	0.089
Taux global des esters		0.089
Acétate	2, 6- octadien-1-ol-3, 7-dimethyl, acétate (Z)	0.041
Taux global des acétates		0.041
Taux global des produits carbonyle		47.78

Le tableau II.3 résume le taux des différents produits possédant le groupement C=O dans l'huile essentielle de carvi par CG-SM. L'examen des valeurs montre que le taux global des différentes classes de produits carbonyles dans l'huile essentielle de carvi est de 47.8 % constitué principalement de carvone avec un taux de 87 % est représenté avec la fraction cétonique avec un taux de 95 % comme l'illustre la figure II.4.

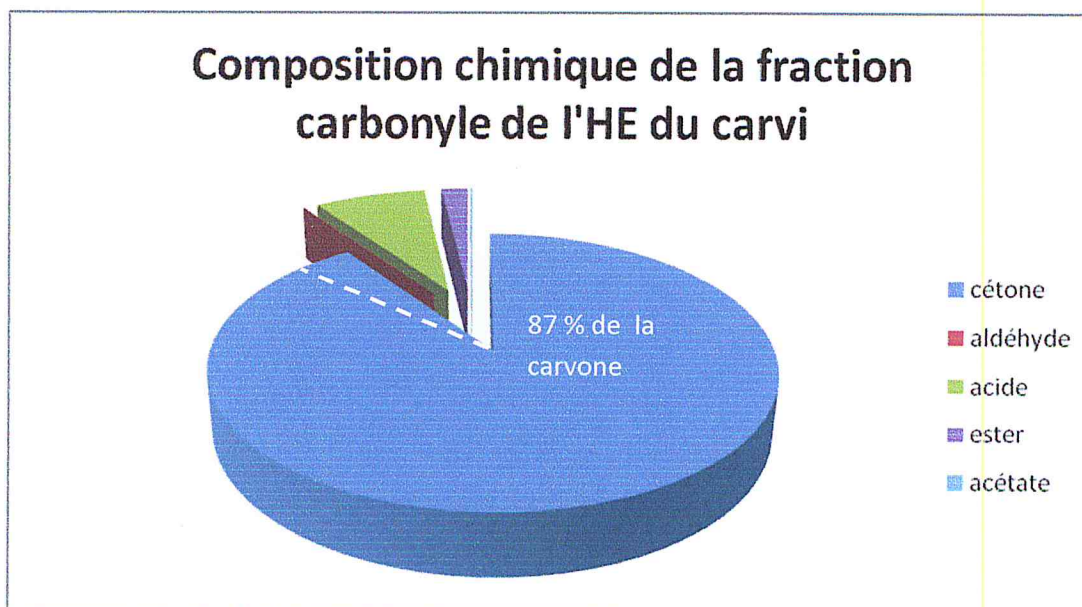


Figure II.4: Composition chimique de la fraction carbonyle de l'HE de carvi

Par conséquent, on peut conclure que le monoterpène carvone peut être considéré comme produit standard adéquat représentant la fraction monoterpénique carbonyle de l'huile essentielle de carvi, pour les différentes déterminations par spectrométrie IRTF.

Chapitre III

**Dosage de la fraction monoterpénique
carbonyle de l'extrait de carvi par
spectrométrie IRTF**

Ce chapitre est consacré au dosage quantitatif de la fraction monoterpénique carbonyle dans l'extrait de carvi par spectrométrie IRTF sans traitement préalable des extraits. Cette fraction va être analysée globalement sous forme de carvone, du fait que ce dernier constitue le produit majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi [48].

Il y a lieu de noter que l'équipe a déjà utilisé la spectrométrie IRTF pour le dosage des métabolites secondaires des extraits de plantes inférieures [49, 50].

III.1. Préparation de l'extrait

Les graines de carvi ont subi un triage manuel pour éliminer les organismes susceptibles de contaminer l'extrait. Ensuite, elles sont broyées.

L'extrait est obtenu par le stockage de 210 g de carvi dans 350 ml de dichlorométhane (jusqu'à immerger toute la quantité de matière végétale) pendant trois jours, le miscella extrait-solvant est filtré afin d'éliminer toutes les poussières et les particules dues à la dégradation de la matière végétale. Suivi d'une distillation dans un rotavapeur pour éliminer le dichlorométhane. Le dichlorométhane distillé est introduit pour une deuxième extraction pendant une semaine. Le rendement global de l'extraction est de 9.69 %. Cette procédure est résumée sur l'organigramme de la figure III.1.

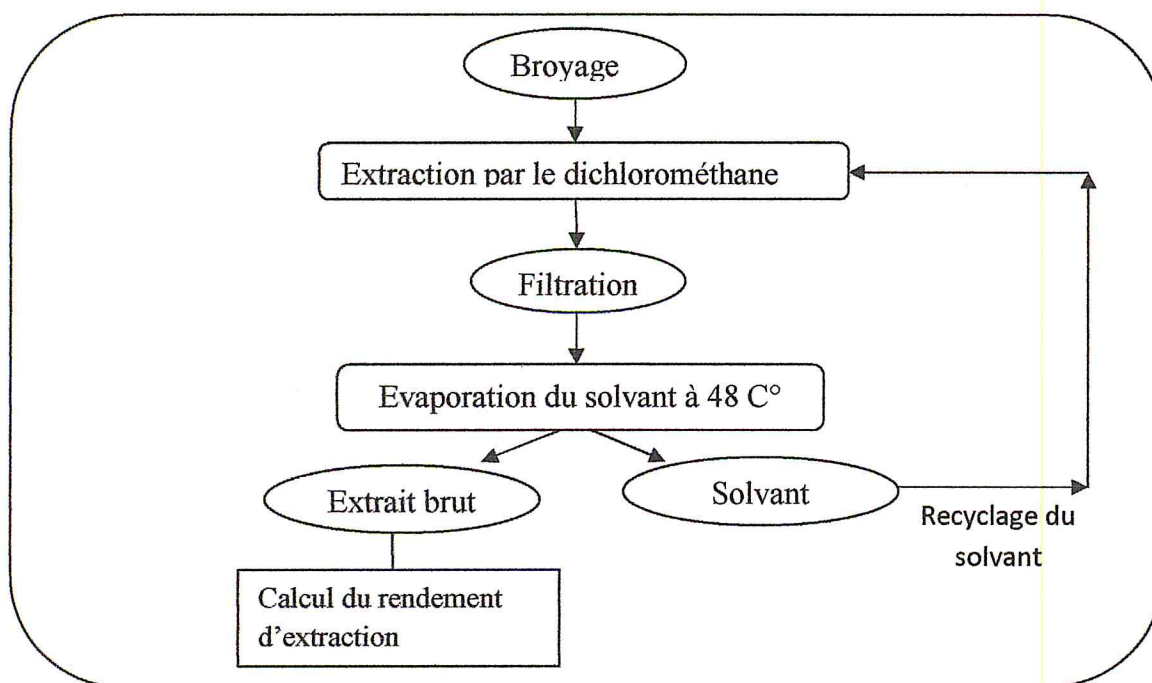


Figure III.1: Préparation de l'extrait à partir de la matière végétale

III.2. Identification de la carvone dans le carvi par CCM

L'objectif de cette manipulation est de vérifier la présence de la carvone dans l'extrait brut de carvi.

L'extrait obtenu est analysé par chromatographie sur couche mince. La séparation est effectuée sur une plaque en plastique de dimension 4x8 cm² recouverte d'une couche mince et adhérente de silice finement divisée. L'élution est réalisée avec un mélange iso-octane/acétate d'éthyle dans les proportions: 60/40 (v/v). La révélation est effectuée par l'iode broyé et par une lampe ultraviolette à 365 nm. L'analyse de cette plaque montre l'existence de la carvone dans l'extrait de carvi par l'apparition d'une tache brunâtre de facteur de rétention R_f 0.56 (figure III.2).

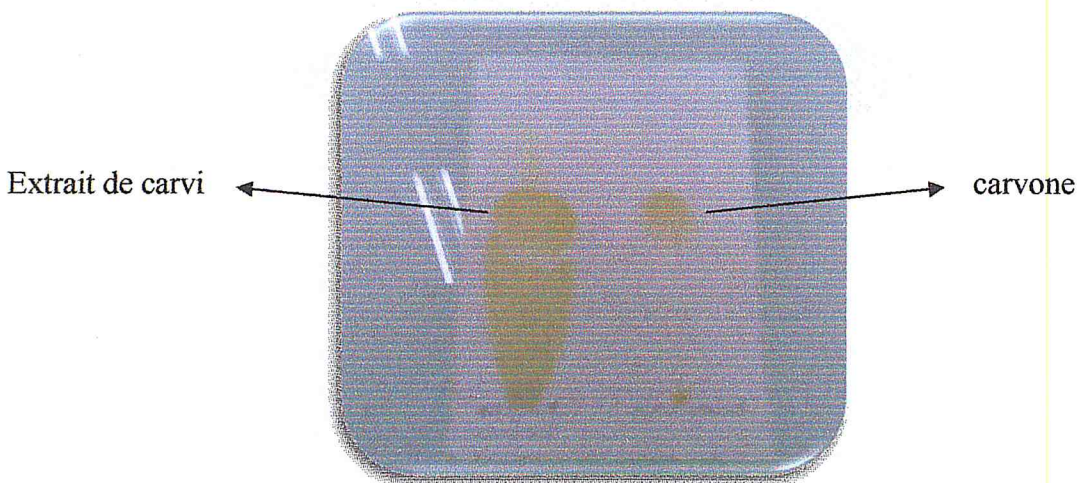


Figure III.2 : Identification de la carvone par CCM

III.3. Dosage de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi par spectrométrie IRTF

III.3.1. Instrumentation et réactifs

Un spectromètre Infrarouge à transformée de Fourier de marque (JASCO) modèle IRTF-4100 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 triglycine deutré (DSTG) à température stabilisée, d'une séparatrice de radiation en KBr, d'une fonte type globar et d'un système de

processus digital (SPD). Les spectres ont été obtenus avec une résolution nominale de 4 cm^{-1} et en accumulant 15 balayages par spectre.

Le travail a été réalisé avec un système à écoulement bloqué en modifiant au niveau de notre laboratoire une cellule conventionnelle en une cellule de flux. L'avantage d'une telle cellule est d'éviter les inconvénients relatifs au nettoyage et au remplissage des cellules conventionnelles, de minimiser la consommation des solvants organiques et le temps d'analyse (15-60 s). Dans le système à écoulement bloqué, on remplit la cellule en utilisant une pompe péristaltique, 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.

Le montage de la figure III.3 a été utilisé pour effectuer les mesures dans l'infrarouge moyen, en employant des fenêtres de fluorure de calcium (CaF_2) et une entretoise de Téflon de 0.5 mm d'épaisseur. Les tubes de connections sont en téflon de diamètre intérieur de 0.8 mm et le chargement est réalisé en utilisant des tubes de chlorure de polyvinyle de diamètre intérieur de 2.79 mm et en fixant un débit de 1.5 ml mn^{-1} .

Tous les réactifs utilisés dans cette étude sont de grade analytique.

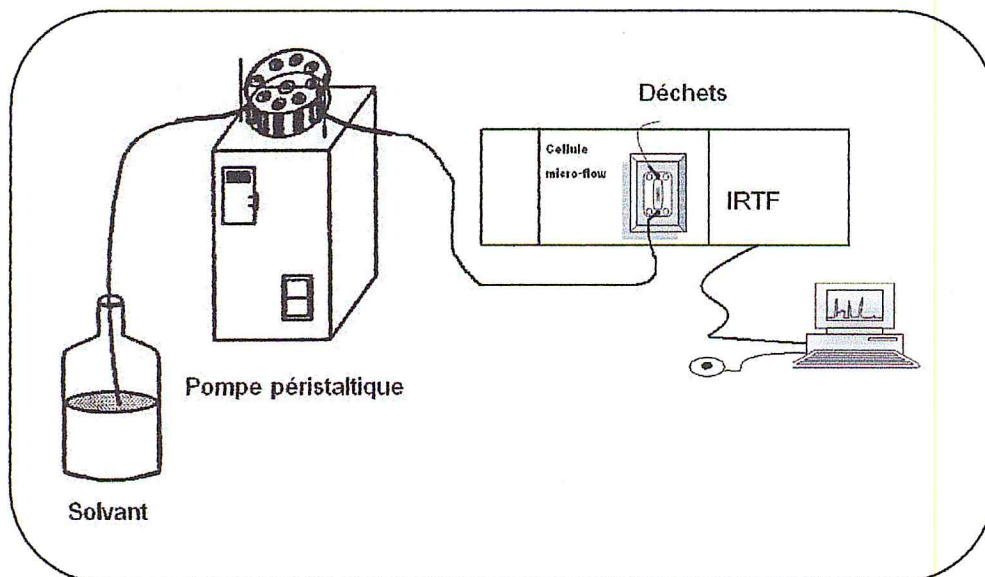


Figure III.3: Montage de flux utilisé pour les différentes analyses

III.3.2. Résultats et discussions

Il y a lieu de rappeler que la détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle dans l'extrait est réalisée sans traitement préalable de ce dernier.

Les spectres IRTF sont enregistrés par rapport à un background, stabilisé préalablement dans les mêmes conditions instrumentales avec une cellule remplie de solvant pur utilisé pour la préparation de solution (CH_2Cl_2 stabilisé avec l'amylène). Pour traiter les spectres, on a utilisé un macro qui donne les valeurs d'absorbance à la bande sélectionnée, exprimées en termes de la hauteur du pic de toute la série de spectres obtenus, lors des mesures.

III.3.2.1. Spectre IRTF de la carvone

La figure III.4 montre le spectre IRTF de la carvone, préparée en solution dans CH_2Cl_2 .

Une étude détaillée, relative au mode de mesure des valeurs d'absorbance et aux différentes alternatives de correction de ces valeurs dans la gamme s'étalant de 4000 à 900 cm^{-1} est réalisée. Au dessous de 800 cm^{-1} les fenêtres de la cellule CaF_2 utilisées sont opaques, alors que la résolution des spectres entre 900 et 800 cm^{-1} est très mauvaise.

Comme on peut le constater, le spectre montre des bandes dans la région entre 2925 et 2889 cm^{-1} liées aux vibrations des groupes CH_2 et CH_3 . Il présente aussi une bande intense à 1732 cm^{-1} caractéristique du groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}$, une bande à 1668 cm^{-1} caractéristique du groupement $\text{C}=\text{C}$, une bande à 1450 cm^{-1} correspondant aux vibrations de déformations asymétriques des CH_3 , une bande intense à 1373 cm^{-1} présente la déformation symétrique des groupes CH_2 et CH_3 ainsi que des bandes à 1110 et 1046 cm^{-1} caractéristique du groupement $\text{C}-\text{C}$. La bande qui apparait vers 3685 cm^{-1} est due probablement à la présence de traces d'eau dans la solution. Ceci est effectivement confirmé par la bande à 1602 cm^{-1} .

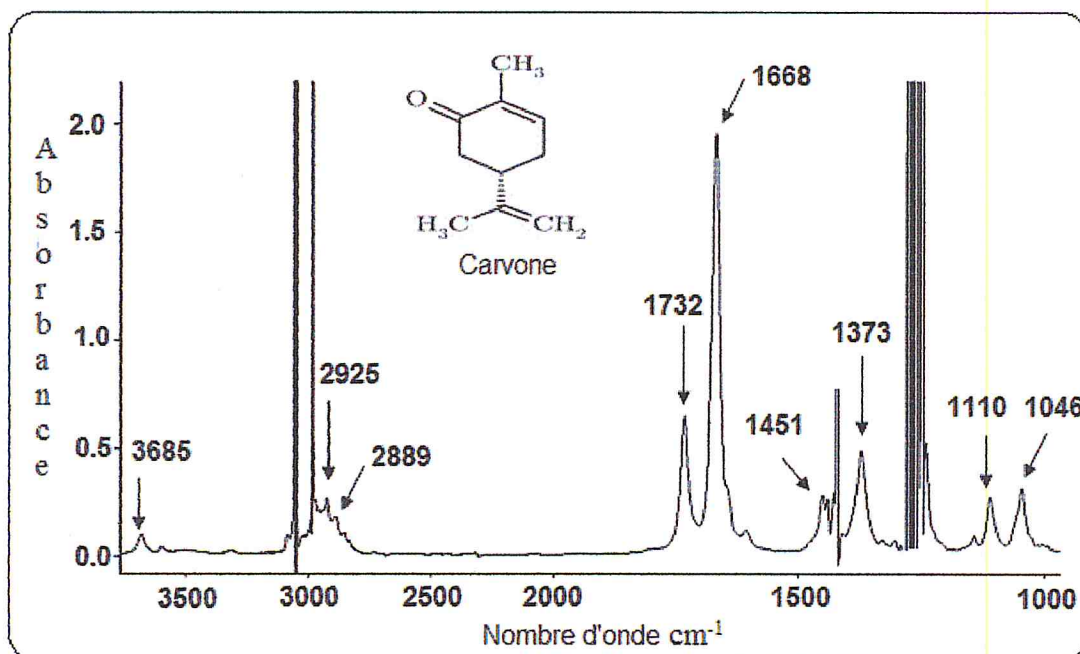


Figure III.4: Spectre d'absorbance IRTF de la carvone (10 mg.ml^{-1}) préparée dans CH_2Cl_2 stabilisée avec l'amyène.

Conditions expérimentales : Chemin optique 0.5 mm ; résolution nominale 4 cm^{-1} ; nombre de balayage 15 ; vitesse de l'interféromètre 0.6329 cm.s^{-1} ; Background de la cellule remplie de CH_2Cl_2 stabilisé avec l'amyène.

III.3.2.2. Spectres IRTF de la carvone et de l'extrait de carvi

Il est important de rappeler que la carvone constitue le produit majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle. C'est un produit qui se trouve dans l'extrait de carvi, à un taux important, qui peut dépasser les 50 % [48]. De ce fait, il a été décidé de préparer une solution étalon de la carvone de concentration de 10 mg.ml^{-1} et une solution d'extrait de carvi de concentration de 20 mg.ml^{-1} dans le dichlorométhane pour discuter les bandes communes des deux solutions.

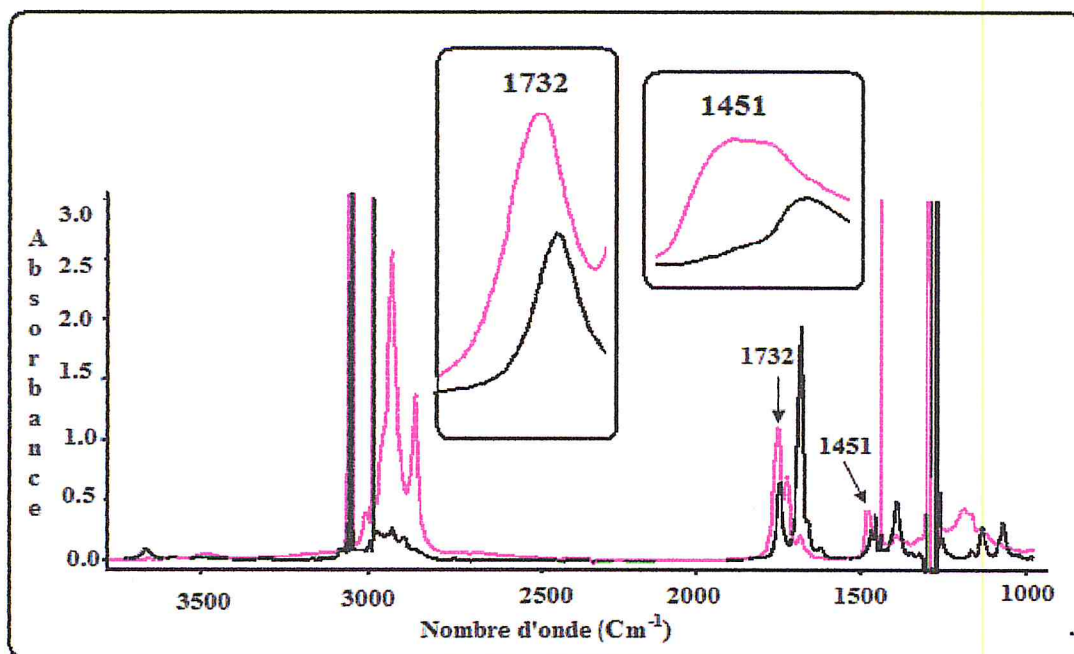


Figure III.5: Spectre IRTF de la carvone 10 mg.ml^{-1} (en noir) et d'extrait de carvi 20 mg.ml^{-1} (en rose) dans CH_2Cl_2

L'analyse du spectre infrarouge de l'extrait de carvi n'est pas complexe comme la majorité des extraits. En comparant la sensibilité des différentes bandes des deux spectres, de la solution étalon de la carvone (10 mg.ml^{-1}) et de l'extrait de carvi (20 mg.ml^{-1}) préparées directement dans le CH_2Cl_2 (figure III.5), on peut conclure que les deux bandes communes à l'étalon et à l'extrait qui apparaissent à 1732 cm^{-1} et à 1451 cm^{-1} peuvent être sélectionnées pour établir les droites d'étalonnage.

3.3.2.3. Caractéristiques analytiques de la carvone obtenue directement dans CH_2Cl_2 /amylène

Les spectres infrarouges d'une série d'étalons de la carvone à des concentrations allant de 0.75 à 10 mg.ml^{-1} sont représentés dans la figure III.6.

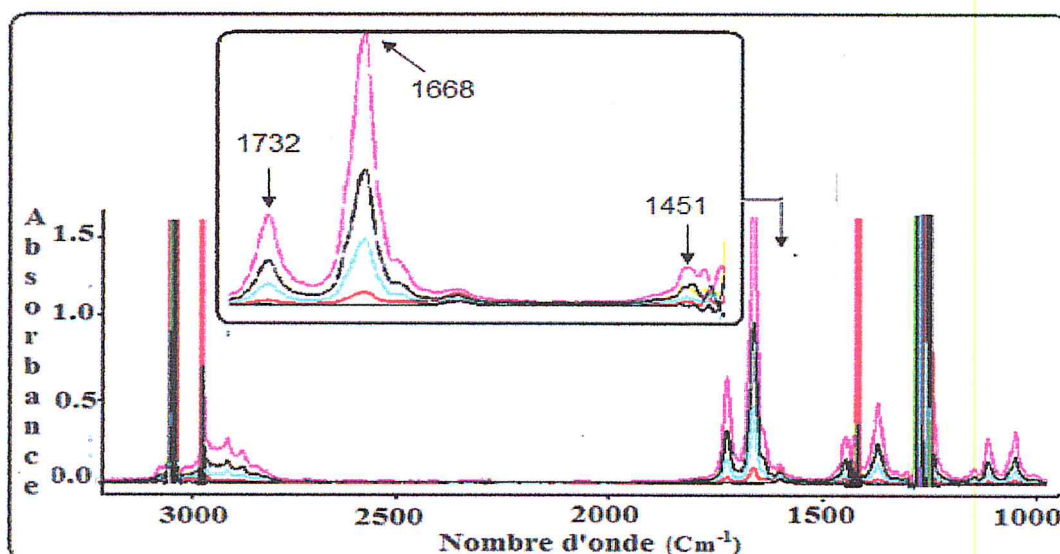


Figure III.6: Spectres d'absorbance d'une série d'étalons de la carvone préparée dans CH_2Cl_2 pour un domaine de concentration compris entre 0.75 et 10 mg.ml^{-1}

Le tableau III.1 regroupe les caractéristiques analytiques de la carvone préparée directement dans le solvant CH_2Cl_2 , stabilisée avec de l'amylène, en considérant les valeurs d'absorbances des deux bandes sélectionnées à 1732 cm^{-1} et 1451 cm^{-1} corrigées avec des lignes de base adéquates. On peut constater que les deux bandes fournissent une bonne linéarité de la courbe d'étalonnage avec une bonne précision. Cependant, on a vérifié que l'absorbance à 1451 cm^{-1} est interférée par une autre bande d'absorbance d'extrait qui apparaît vers 1450 cm^{-1} .

Tableau III.1: Caractéristiques analytiques de la carvone dans le CH_2Cl_2

Mode de mesure	Max: 1732 cm^{-1} L.B: $1830\text{-}1580 \text{ cm}^{-1}$	Max: 1451 cm^{-1} L.B: $1549\text{-}1315 \text{ cm}^{-1}$
Droite de calibration	$-0.012972 + 0.054498 C$	$0.000659 + 0.023596 C$
Coefficient de corrélation	0.9999	0.9999
Limite de détection ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	90	96
D.S.R (%) (n=10)	0.86	0.81
Domaine de concentration (mg.ml^{-1})	0.75-10	

C: Concentration en mg.ml^{-1} .

D.S.R (%): Déviations Standard Relative (pour $C = 5 \text{ mg.ml}^{-1}$).

L.D: Limite de détection en $\mu\text{g.ml}^{-1}$ obtenu par un niveau de confiance de 99 % ($K=3$).

L.B: Ligne de base

III.3.2.4. Détermination directe du taux des monoterpènes carbonyles de l'extrait de carvi par spectrométrie IRTF

Le contenu des monoterpènes carbonyle, de l'extrait de carvi est établi en extrapolant les valeurs d'absorbance dans la droite de calibration obtenue à 1732 cm^{-1} , corrigée avec une ligne de base stabilisée entre $1830\text{-}1580\text{ cm}^{-1}$ pour les étalons de carvone préparées directement dans le dichlorométhane.

Il y a lieu de noter un léger déplacement des bandes de l'extrait, comme l'illustre la figure III.7, dû certainement à l'effet matrice provoqué par la bande d'absorbance qui apparaît à 1709 cm^{-1} .

Pour corriger cette interférence, deux décisions ont été prises. La première consiste à mesurer les valeurs d'absorbance de l'extrait de carvi à 1739 cm^{-1} au lieu de 1732 cm^{-1} et la deuxième est de faire appel au spectre dérivé.

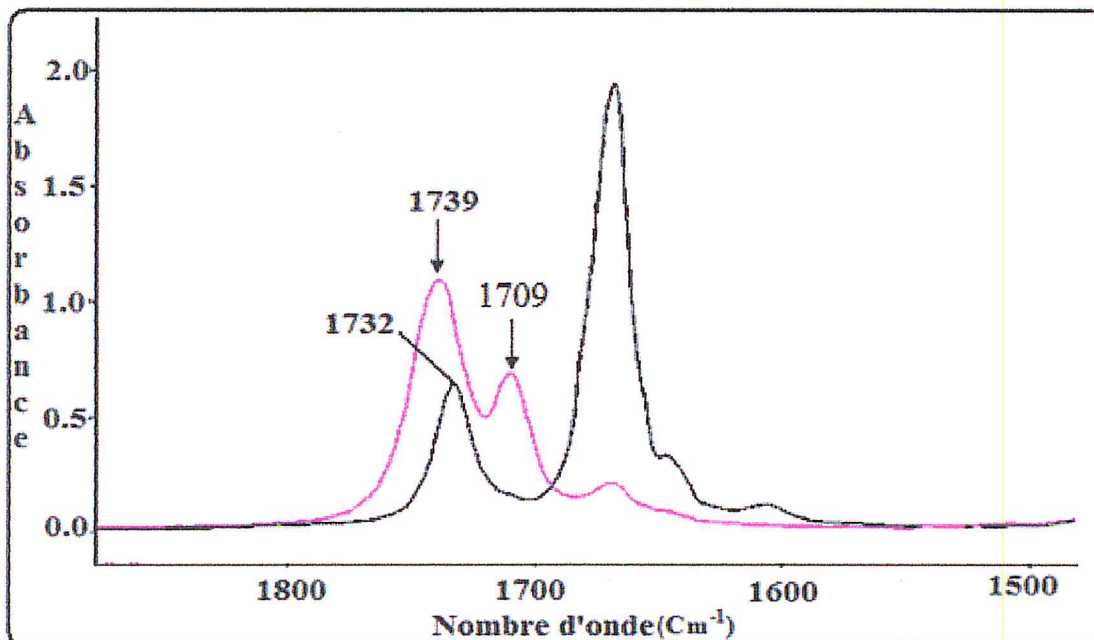


Figure III.7: Spectres infrarouge de la carvone 10 mg.ml^{-1} (en noir) et de l'extrait de carvi 20 mg.ml^{-1} (en rose) dilué dans CH_2Cl_2

En extrapolant les valeurs d'absorbance de l'extrait de carvi obtenues à 1739 cm^{-1} , le taux des monoterpènes carbonyle a été évalué à 46 %.

III.3.2.5. Utilisation du spectre dérivé

La deuxième alternative, pour éliminer l'effet matrice, est d'utiliser le spectre dérivé du spectre direct à 1732 cm^{-1} .

Le spectre Infrarouge classique des extraits donne souvent une indication insuffisante pour l'identification d'une substance ou même d'une classe de produits chimiques. En effet, de nombreuses substances peuvent avoir un maximum à la même bande, ce qui peut entraîner des confusions.

La spectrométrie dérivée peut être très intéressante pour résoudre le problème d'identification et permettre de savoir si un produit est pur ou en mélange. Cette méthode met très clairement en évidence les changements de pente des spectres et permet ainsi de noter les points d'inflexion avec précision. De plus, dans un spectre dérivé d'ordre n , une bande du spectre d'origine se traduit par l'existence de $n+1$ bandes alternativement positive et négative. Cela entraîne la formation de n points d'annulation faciles à déterminer avec une très grande précision. En conséquence, cette technique doit permettre de définir beaucoup plus clairement les caractéristiques du spectre d'une substance [51].

Il a été déjà utilisé cette méthode de spectres dérivés pour doser simultanément le carbonyle et le 1-naphtol et résoudre le problème des interférences [52].

La spectrophotométrie dérivée permet de prendre en compte la totalité du spectre et pas seulement le maximum à 1732 cm^{-1} . C'est pour quoi nous avons voulu examiner la possibilité d'utiliser la dérivation pour améliorer la précision des spectres afin d'apporter une solution au problème lié au déplacement de la bande d'absorbance de l'extrait et de vérifier la possibilité de séparer les monoterpènes cétoniques des autres monoterpènes carbonyle.

III.3.2.5.a. Caractéristiques analytiques de la carvone en utilisant le spectre dérivé

Les spectres dérivés d'une série d'étalons de la carvone sont montrés dans la figure III.8. Le maximum à 1732 cm^{-1} du spectre d'origine donne deux bandes alternativement positive (volet droit) à 1728 cm^{-1} et négative (volet gauche) à 1742 cm^{-1} .

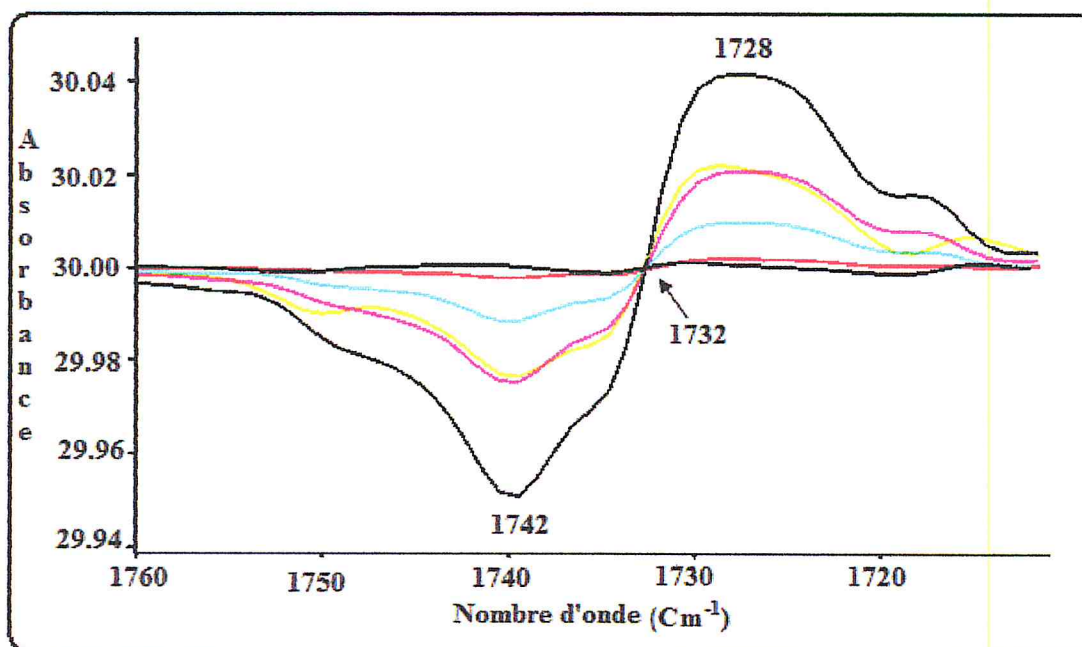


Figure III.8: Spectres infrarouge dérivés d'une série d'étalons de la carvone préparée dans CH_2Cl_2

Les caractéristiques analytiques de la carvone préparée dans CH_2Cl_2 dans un domaine de concentration compris entre $0.75\text{-}10\text{ mg.ml}^{-1}$ et en considérant les valeurs d'absorbance des spectres de la première dérivée, aussi bien pour le volet droit à 1728 cm^{-1} que pour le volet gauche à 1742 cm^{-1} , sont résumés dans le tableau III.2

Tableau III.2: Caractéristiques analytiques de la carvone préparée dans CH_2Cl_2

Paramètres	Volet gauche Max: 1728 cm^{-1} L.B: $1620\text{-}1788\text{ cm}^{-1}$	Volet droit Max: 1742 cm^{-1} L.B: $1580\text{-}1830\text{ cm}^{-1}$
Droite de calibration	$0.000188+0.004133C$	$0.000911+0.003753C$
Coefficient de corrélation	0.9998	0.9999
Limite de détection ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	19	39
D.S.R (%) (n=10)	0.14	0.27
Domaine de concentration (mg.ml^{-1})	0.75-10	

III.3.2.5.b. Détermination du taux des monoterpènes carbonyle de l'extrait de carvi en utilisant le spectre infrarouge dérivé

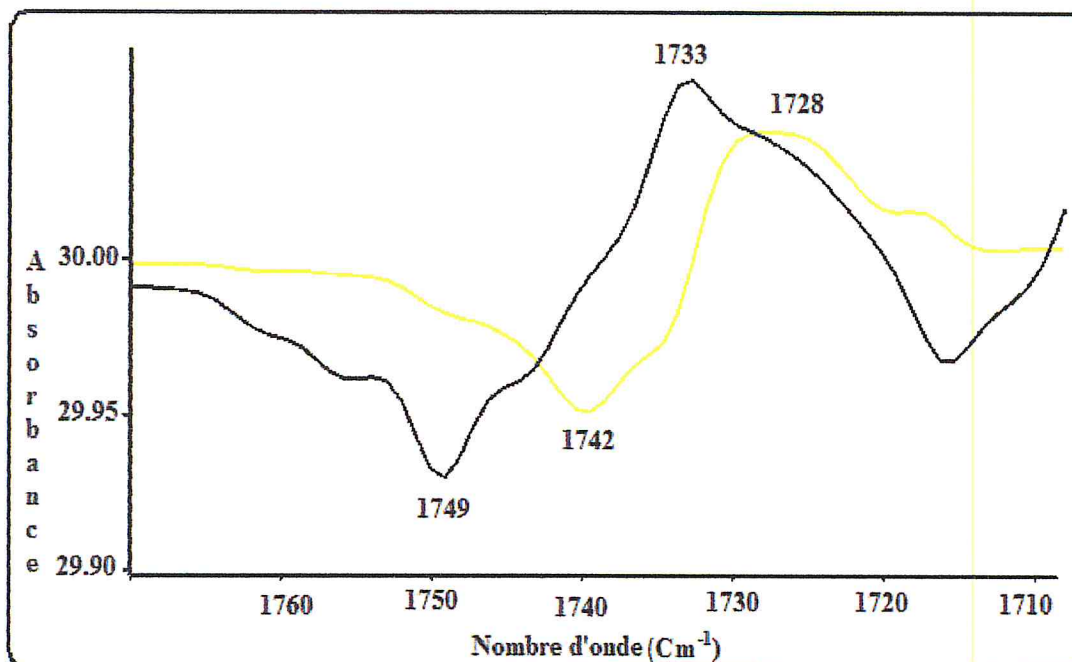


Figure III.9: Spectres dérivés d'une solution étalon de la carvone 10 mg.ml⁻¹ (en noir) et d'extrait de carvi 20 mg.ml⁻¹ (en jaune) préparée dans CH₂Cl₂

L'analyse de l'allure du spectre dérivé de l'extrait de carvi montre que le déplacement de la bande n'a pas pu être corrigé aussi bien pour le volet droit que gauche. Ce qui impose la mesure des valeurs d'absorbance de l'extrait à 1733 cm⁻¹ au lieu de 1728 cm⁻¹ et à 1749 cm⁻¹ au lieu de 1742 cm⁻¹.

Le taux des monoterpènes carbonyles de l'extrait de carvi est obtenu en extrapolant les valeurs d'absorbances dans la droite de calibration établie avec la série des spectres dérivés à 1732 cm⁻¹ en considérant le volet droit à 1728 cm⁻¹ et le volet gauche à 1742 cm⁻¹.

Tableau III.3: Taux de la fonction monoterpénique carbonyle dans le carvi en utilisant le spectre dérivé

	Max: 1728 cm ⁻¹ L.B: 1620-1788 cm ⁻¹	Max: 1742 cm ⁻¹ L.D: 1620-1788 cm ⁻¹
Extrait de carvi	48	39

Bien que le spectre dérivé n'a pas corrigé le déplacement de la bande d'absorbance de l'extrait mais offre des résultats très intéressants concernant la séparation des monoterpènes cétoniques de la fraction globale des monoterpènes carbonyles. Effectivement, l'examen du spectre direct de la carvone et de l'extrait de carvi (figure III.5) montre que l'identification spécifique de ces deux fractions séparées est impossible.

L'examen des résultats montrés dans le tableau III.3 indique que le volet droit du spectre dérivé donne le taux de la fraction monoterpénique carbonyle globale de l'extrait de carvi et qui est de l'ordre de 48 %, valeur qui est en accord avec celle obtenue en utilisant le spectre direct à 1732 cm^{-1} . Alors que le volet gauche du spectre dérivé donne le taux de la fraction des monoterpènes cétoniques de l'extrait de carvi et qui est évalué à 39 %. De ce fait, le taux de la fraction cétonique dans la fraction carbonyles est de 81 %.

III.3.2.6. Utilisation du camphre comme étalon pour la détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait

Comme la carvone est le produit majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait, elle a été utilisée comme étalon adéquat pouvant représenter la classe de ces produits. La question qui s'est imposée lors de cette étude, était la possibilité de pouvoir utiliser un autre monoterpène carbonyle cétonique comme étalon pour mener à bien les différentes déterminations.

Le camphre est un monoterpène cétonique mais qui est en général présent dans l'extrait étudié avec un taux faible ($< 1\%$). Suite à cela, ce produit est sélectionné pour vérifier s'il est approprié à être utilisé comme étalon en considérant les paramètres spectraux déterminés déjà pour la carvone.

III.3.2.6.a. Caractéristiques analytiques du camphre en utilisant le spectre dérivé

Les spectres dérivés d'une série d'étalons du camphre sont montrés dans la figure III.10. Le maximum à 1736 cm^{-1} du spectre d'origine donne deux bandes alternativement positive (volet droit) à 1733 cm^{-1} et négative (volet gauche) à 1739 cm^{-1} .

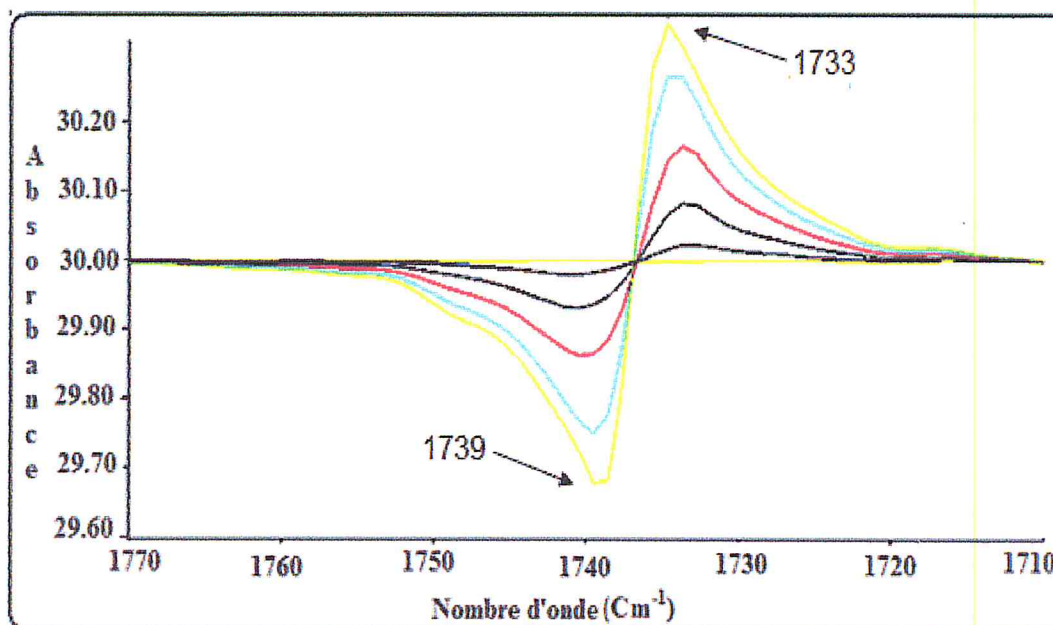


Figure III.10: Spectres dérivés d'une série d'étalons du camphre et d'extrait de carvi préparée dans CH_2Cl_2

Les caractéristiques analytiques du camphre préparée dans CH_2Cl_2 dans un domaine de concentration compris entre $0.75\text{-}10 \text{ mg.ml}^{-1}$ et en considérant les valeurs d'absorbances des spectres de la première dérivée, aussi bien pour le volet droit à 1733 cm^{-1} que pour le volet gauche à 1739 cm^{-1} , sont résumés dans le tableau III.4.

Tableau III.4: Caractéristiques analytiques du camphre préparé dans CH_2Cl_2

Paramètres	Volet droit Max: 1733 cm^{-1} L.B: $1686\text{-}1792 \text{ cm}^{-1}$	Volet gauche Max: 1739 cm^{-1} L.B: $1686\text{-}1792 \text{ cm}^{-1}$
Droite de calibration	$-0.0006475 + 0.03361C$	$-0.000532 + 0.02659 C$
Coefficient de corrélation	0.9999	0.9999
Limite de détection ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)	14	20.49
D.S.R (%) (n=10)	0.40	0.52
Domaine de concentration (mg.ml^{-1})	0.75-10	

En comparant la sensibilité des différentes bandes d'absorbance des deux étalons (carvone et camphre), on remarque que le camphre est beaucoup plus sensible. A cet effet, on ne peut pas utiliser le camphre comme étalon pour la détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi. Cependant, reste à vérifier expérimentalement, si le produit majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle peut être toujours utilisé comme étalon adéquat pour la détermination du taux de cette dernière, et cela quelque soit la nature de l'extrait végétale.



Conclusion générale

La partie principale de ce mémoire a été consacrée au développement des applications analytiques quantitatives de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier. Cette méthode analytique simple, rapide et surtout disponible a été utilisée pour la détermination de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de l'espèce végétale *carum carvi*.

Le contenu de ce mémoire comprend trois chapitres distincts qui ont été développés de la façon suivante :

Un chapitre théorique comprenant:

- Les généralités sur les monoterpènes et sur l'espèce *carum carvi*;
- Le principe théorique d'extraction et des différentes techniques d'analyses employées dans ce travail;
- Ainsi que la synthèse bibliographique des travaux antérieurs réalisés dans ce mémoire.

Le deuxième chapitre est consacré à la préparation de l'huile essentielle par hydrodistillation et l'étude de sa composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Cette étude représente une analyse qualitative des différents produits de l'huile essentielle de *carvi*. Une attention particulière est portée sur les composés ayant le groupe fonctionnel carbonyle C=O. Le taux global de chaque classe de produits à savoir: les cétones, les aldéhydes, les acides, les esters, et les acétates est déterminé.

Le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation des graines de *carvi* est de 0.81%. La composition chimique de l'HE est dominée par les terpènes et leurs dérivés 35% représentés par les monoterpènes, les sesquiterpènes et les diterpènes. Le taux des différentes classes de produits chimiques carbonyles est de 47.8% dominé par la fraction cétonique, représentée par la carvone, avec un taux de présence de 87%.

Cette information constitue un résultat préliminaire à l'analyse de la fraction monoterpénique carbonyle totale de l'extrait de *carvi* par spectrométrie IRTF.

Le troisième chapitre lié au dosage quantitatif de la fraction monoterpénique carbonyle dans l'extrait de *carvi* par spectrométrie IRTF, sans traitement préalable de l'extrait. Cette fraction a été analysée globalement sous forme de carvone, du fait qu'elle constitue le produit majoritaire de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de *carvi*.

La comparaison des spectres IRTF de la carvone et de l'extrait de carvi a donné deux bandes communes à 1732 cm^{-1} et à 1451 cm^{-1} . Bien que les caractéristiques analytiques de la carvone aux deux bandes d'absorbance ont fourni une bonne linéarité de la courbe d'étalonnage avec une bonne précision dans le domaine de concentration compris entre $0.75\text{-}10\text{ mg ml}^{-1}$, mais seulement la bande à 1732 cm^{-1} est adéquate pour la détermination car l'absorbance à 1451 cm^{-1} est interférée par une autre bande d'absorbance de l'extrait qui apparaît vers 1450 cm^{-1} . Le taux des monoterpènes carbonyles est évalué à 46%.

Afin d'apporter une solution au problème lié au déplacement de la bande d'absorbance de l'extrait et de vérifier la possibilité de séparer les monoterpènes cétoniques d'autres monoterpènes carbonyles, on a fait appel au spectre de la première dérivé du spectre directe à 1732 cm^{-1} . Bien que le spectre dérivé n'a pas corrigé le déplacement de la bande d'absorbance de l'extrait, cependant il offre des résultats très intéressants concernant la séparation des monoterpènes cétoniques de la fraction globale des monoterpènes carbonyles.

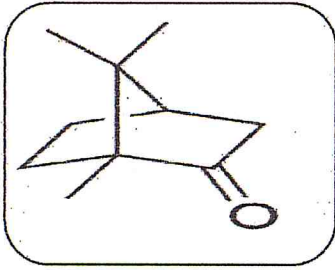
En considérant le volet droit du spectre dérivé à 1728 cm^{-1} on évalue le taux de la fraction monoterpénique carbonyle globale de l'extrait de carvi à 48%, cette valeur est en accord avec celle obtenue en utilisant le spectre direct à 1732 cm^{-1} . Le volet gauche du spectre dérivé à 1742 cm^{-1} donne le taux de la fraction des monoterpènes cétoniques de l'extrait de carvi de l'ordre de 39%.

Ceci revient à dire que la fraction monoterpénique carbonyle est dominée par la fraction cétonique avec un taux de 81%. Tous ces résultats sont très proches à ceux déterminés pour l'huile essentielle de carvi par CG-SM.

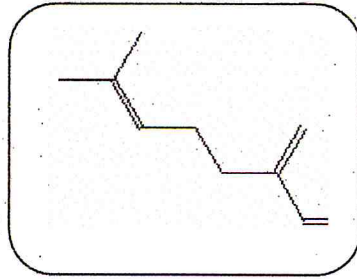
Il a été vérifié que l'utilisation d'un autre monoterpène carbonyle cétonique se trouvant dans l'extrait avec un taux faible (cas du camphre) ne peut pas être utilisée comme étalon pouvant représenter la classe de ces produits.

Suite à cette étude, il convient d'envisager la détermination de la fraction monoterpénique carbonyle d'une espèce dont le camphre constitue le produit majoritaire de la fraction et de vérifier les conditions spectrales utilisées dans cette étude.

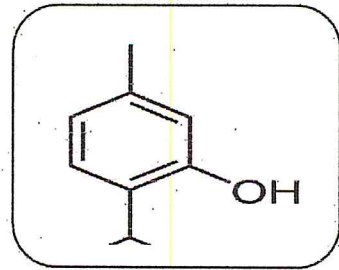
ANNEXE



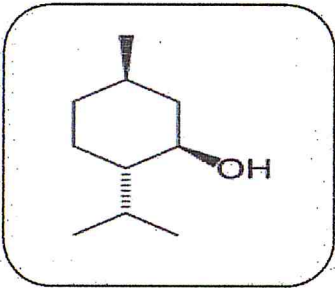
Camphre



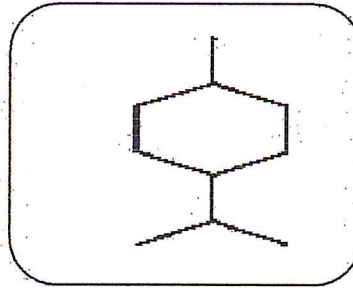
Myrcene



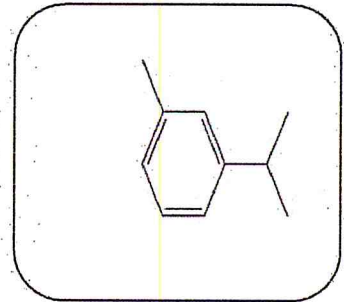
Thymol



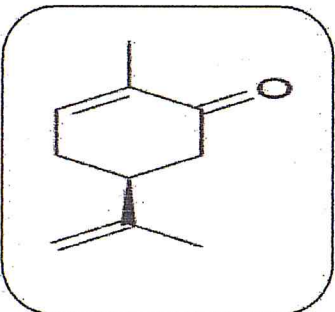
Menthol



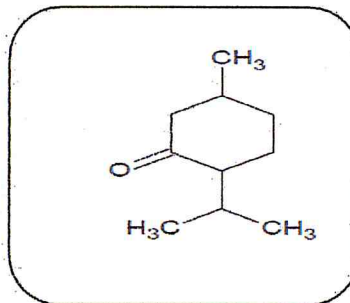
Menthane



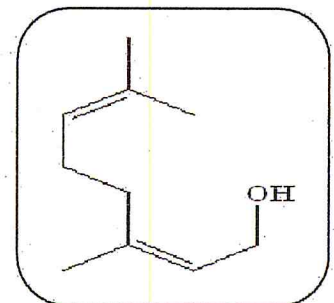
Cymene



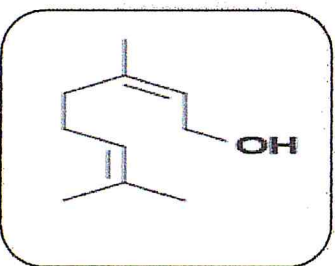
Carvone



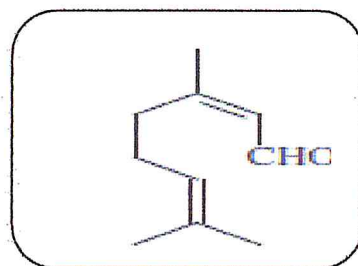
Menthone



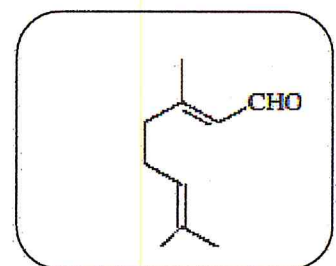
Geraniol



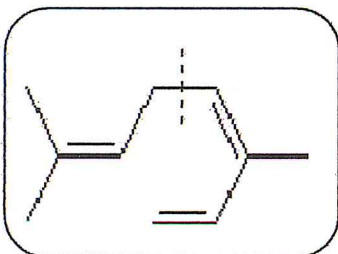
Nerol



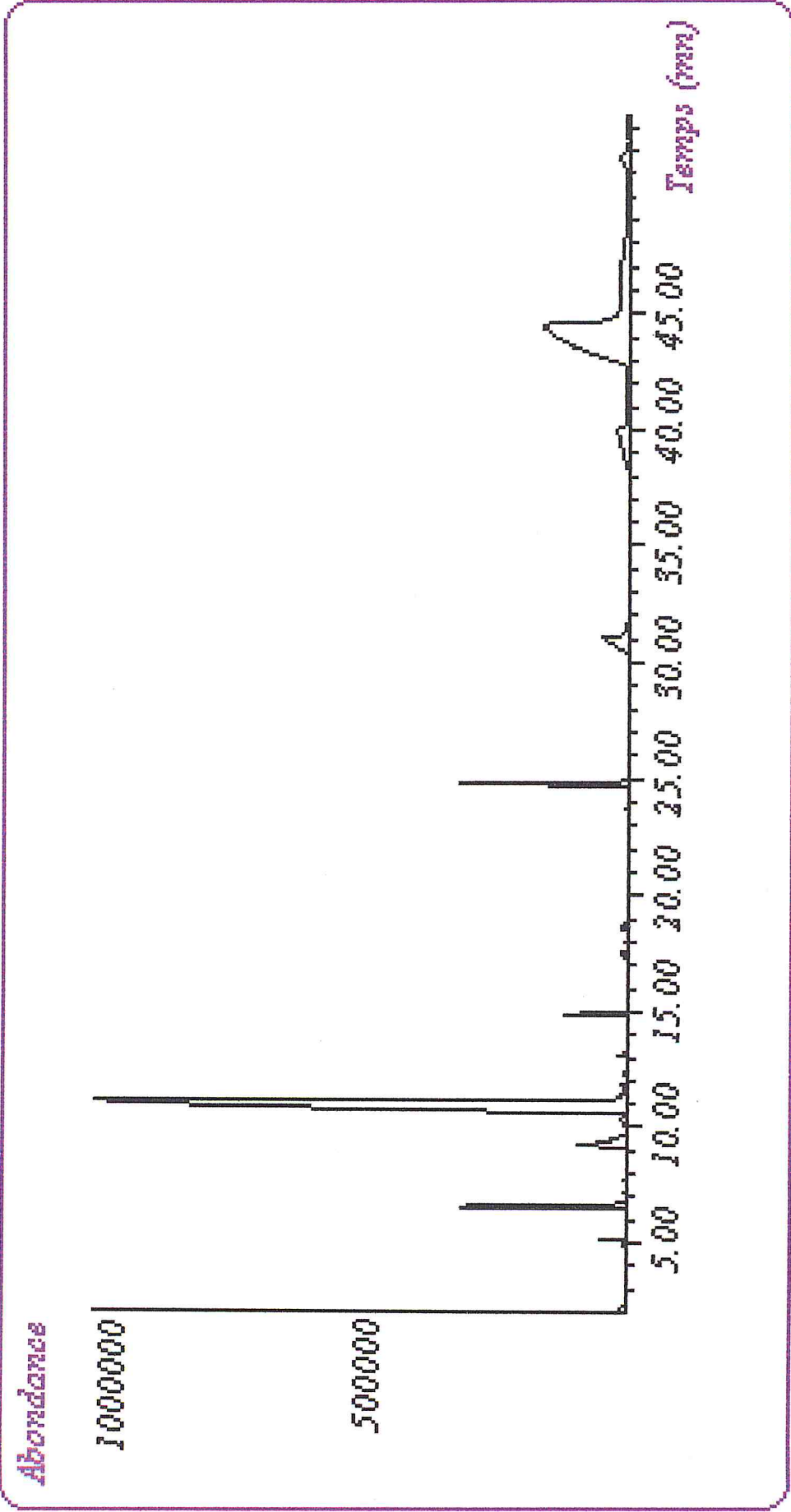
Geranial



Neral



Ocimene



Chromatogramme de l'huile essentielle de carvi

Références bibliographiques

- [1] F. Naghibi, M. Mosaddegh, M.S. Mohammadi, A. Ghorbani; « Labiatae family in folk medicine in Iran: from ethnobotany to pharmacology »; Iranian journal of pharmaceutical Research (2005), V 2
- [2] P. Babulka; «Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne »; phytothérapie (2007), V 5
- [3] H. Richard; « Epices et aromates »Tec et Doc, Lavoisier apria, (1992), page 18
- [4] P. Delaveau; « Les Epices. Histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments », Albin Michel (1987), p 372
- [5] S. D. Cox, C. M. Mann, J. L. Markham, H. C. Bell, J. E. Gustafson, J. R. Warrington, S. G. Wyllie; « The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) »; Journal of Applied Microbiology (2000), v 88, 1, page 170
- [6] I. Smýkalová, P. Šmirous, M. Kubošiová, N. Gasmanová, M. Griga; « Doubled haploid production via anther culture in annual, winter type of caraway (*Carum carvi* L.) »; Acta Physiologiae Plantarum (1995), V31, Number 1, 21-31
- [7] [Association Française de Normalisation, Huile essentielle de carvi (*Carum carvi* L.) AFNOR NF T 75-347. Paris, (1986)]
- [8] B. Chebli, M. Achouri, L.M. Idrissi Hassani, M. Hmamouchi, « Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* »; Journal of Ethnopharmacology (2003), V 89, Issue 1, pp 165-169
- [9] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck; « Biological effects of essential oils »; A review Food and Chemical Toxicology (2008), V 46, pp 446-475
- [10] J. L. Goldstein, M. S. Brown; « Regulation of the mevalonate pathway »; Nature (1990), 343, 425-430
- [11] J. Pellecuer, J.L. Roussel, C. Andary; « Recherche du pouvoir antifongique de quelques huiles essentielles »; *Rivista Italiana Essenzo (EPPOS)*, (1980) 23, 45-50
- [12] N. Qureshi, J. W. Porter; « In Biosynthesis of isoprenoid Compounds »; Wiley: New York (1981), V 1, 47-94
- [13] F. Bakkali; « Biological effects of essential oils »; A review, Food Chem. Toxicol (2007).
- [14] A. Badoc, G. Deffieux, J. P. Carde; « Biogénèse des monoterpènes »; Bull. Soc. Pharm. Bordeaux (1994), 133, 100-118
- [15] K. G. Allen, D. V. Banthorpe, B. V. Charlwood; « Metabolic pools associated with monoterpene biosynthesis in higher plants »; Phytochemistry (1977), 16:79-83

- [16] A. Caubet, I. Lopez, A. Baert; « Effet toxique des cétones »; (2011), 31 (328) 146-147.
- [17] P. Arnaud, Cours de chimie organique, Ed. Dunod, (1997).
- [18] SW. Reust; « Station fédérale de recherches en production végétale de Changins (RAC)»; CH-1260 Nyon Revue suisse Agric, (2000), 32 (4), 150-152
- [19] K. Oosterhaven, A. C. Leitao, L. G. M. Gorris, E. J. Smid; « comparative study on the action of S-(+)-carvone, in situ, on the potato storage fungi fusarium Solani var. coeruleum and F. Sulphureum »; *J. Appl. Bacteriol*, (1996), 80 (5), 535-539
- [20] C. Source, R. Lorenzi, P. Ranall. « The effects of (S)-(+)-carvone treatments on seed potato tuber dormancy and sprouting »; *Potato Res*, (1997), 40 (2), 155-161
- [21] I. M. Helander, H. L. Alakomi, K. Latva-Kala, I. Pol, E. J. Smid; « Characterization of the action of selected essential oils components on gram-negative bacteria »; *J. Agric. Food Chem.*, (1998), 46 (9), 3590-3595
- [22] E. J. Smid, Y de Witte, L. G. M. Gorris; « Secondary plant metabolites as control agents of postharvest penicillium rot on tulip bulb »; *Postharvest Biol. Technol.* (1995), 6, (3-4), 303-312
- [23] S. M. Salom, J. A. Alford, M. Mulesky, C. J. Fettig, S. A. Woods; « Evaluation of natural products as antifeedants for the pales weevil (coleopteran: curculion-idea) and as fungitoxins for leptographium procerum ». *J. Entomological Sci.* (1996) 31 (4), 453-465
- [24] A. Sattar, M. Ashraf, M. K. Bhatti, N. H. Chisti; *Phytochemistry* (1978) 17, 559-560
- [25] N. N. Efremov; « Le camphre et les nitrophénols »; Bulletin de l'Académie des Sciences de Russie. VI série, 13:4-7 (1919), 255-286
- [26] CT. Chien, T. Lin; « Mechanism of hydrogen peroxide in improving the germination of Cinnamomum camphora »; *seed. Seed Sci. & Technol.* (1994) 22: 2, 231-236
- [27] E.W. Harington, N.J. Trun; « Unfolding of the bacterial nucleoid both in vivo and in vitro as a result of exposure to camphor »; *Jour. of Bacter* 119,N°7 2435-2439
- [28] J. Sedlakova., B. Kocourkova., L. Loujkova., V. Kuban. « The essential oils content in caraway species (carum carvi L.) »; *Hort. Sci.* (2003), 30 (2), 73-79
- [29] J. Bailer, T. Aichinger, G. Hackl, K de Hueber, M. Dachler, « Essential oil content and composition in commercially available dill cultivars in comparison to caraway »; *Ind. Corps and Prod.* (2001), 14, 229-239
- [30] M. H. Meshkatsadat, R. Badri, S. Zarei; « Hydro-distillation extraction of volatile components of cultivated buniun luristanicum rech.f. from west of iran »; *International Journal of PharmTech Research* (2009), V 1, No.2, 0974-4304, pp 129-131
- [31] E. Rose, « Technique of organic chemistry », 2nd Edition by John Wiley and sons, New York (1965), V. IV, Distillation pp 1 30

- [32] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, « Chimie analytique »; Ed. De boeck, (1991)
- [33] A. L. Smith, « Applied Infrared Spectroscopy », Ed., John Wiley and Sons, New York (1979)
- [34] W. Horwitz (Ed.); « Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists »; AOAC, Washington, DC, 12th edn., 1975, p.114
- [35] M. J. D. Low, « Infrared Fourier transform Spectroscopy», Anal. Chem. (1969), V 41, 97-108
- [36] Jr. D. R. Lide, "Status Report on Critical compilation of Physical Chemical Data", Annual Review of Physical Chemistry (1973), V 24, 135-158
- [37] A.H. Lettington, « Infrared Technology and Applications »; SPIE-proceedings, Ed. Bellingham WA, London, UK, (1990), V 1320, 484 p
- [38] Y. Daghbouche, S. Garrigues, M. De la Guardia, « Liquid chromatography-FTIR spectrometric determination of cholesterol in animal greases »; Analytica Chimica Acta (1997), 354, 97-106
- [39] Y. Daghbouche, S. Garrigues, M. Teresa Vidal, M. De la Guardia « Flow injection FTIR determination of caffeine in soft drinks », Anal .Chem (1997), 69, 1086-1091
- [40] T. Wawrzynowicz, M. Waksmundzka-Hajnos, M. L. Bieganowska; « Chromatographic investigations of furocoumarins from *Heracleum* genus fruits »; Chromatographia (1989), V 28, Numbers 3-4, Pages 161-166
- [41] F.W. McLafferty, J.A. Michnowicz; « State of the art GC-MS », Chemistry technology, (1992), 182-189
- [42] C.C.R. de Carvalho, M. Manuela, R. da Fonseca; « Carvone: why and how should one bother to produce this terpene »; Food Chemistry (2006), 95, 413-422
- [43] A. Padmashree, N. Roopa, A. D. Semwal, G. K. Sharma, G. Agathian, A. S. Bawa; « Star-anis and black caraway as natural antioxidants »; Food Chemistry 104, (2007), 59-66
- [44] R. Fang, C. H. Jiang, X. Y. Wang, H. M. Zhang, Z. L. Liu, L. Zhou, S. S. Du, Z. W. Deng; « Insecticidal Activity of Essential Oil of *Carum Carvi* Fruits from China and Its Main Components against Two Grain Storage Insects »; Molecules (2010), 15, 9391-9402
- [45] H. J. Bouwmeester, J. A. R. Davies, H. G. Smid, R. S. A. Welten, Industrial Crops and Products, V 4, Issue 1, June (1995), Pages 39-51
- [46] T. Lianhui, M. A. Pereira; Journal of Chromatography A, V 793, Issue 1, 9; January (1998), Pages 71-76
- [47] H. Toxopeus, H. J. Bouwmeester; Industrial Crops and Products; V 1, Issues 2-4, December (1992), Pages 295-301

- [48] D. Zakarya; T. Fathallah; M. Chascrtette, « Use of multifunctional autocorrelation method to estimate molar volumes of alkanes and oxygenated compounds. Comparison between components of autocorrelation vectors and topological indices ». *J. Phys. Org. Chem.* (1993), 6(10), 574-582
- [49] N. Bouzidi, Y. Daghbouche, M. El Hattab, Z. Aliche, G. Culioli, L. Piovetti, S. Garrigues, M. De la Gardia; «Determination of total sterols in brown algae by FTIR spectroscopy »; *Analytica Chimica Acta* 616, (2008), 185-189
- [50] N. Bouzidi, Y. Daghbouche, M. El Hattab, G. Culioli, L. Piovetti, S. Garrigues, M. De la Gardia; « Determination of total sterols from the red alga *Asparagopsis armata*: Comparative studies with HPLC »; *Talanta* 68, (2006), 1230-1235
- [51] J. Petit, P. Prognon, E. Postaire, M. Larue, F. Laurençon Cowrteille, Fradeau D, « Multicomponent analysis of hydrosoluble Polyvitamins by first-derivative Spectrophotometry »; *J. Pharm.Biomed.Anal* , (1930), 8(1), 93-99
- [52] Y. Daghbouche, S. Garrigues, M. de la Guardia; «Solid phase preconcentration- Fourier transform infrared spectrometric determination of carbonyl and 1-naphtol », *Analytica Chimica Acta* 314, (1995), 203-212

