

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana
Faculté des sciences Science de la Technologie
Département de science de la Matière



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention d'un
diplôme de Master

Spécialité: Chimie pharmaceutique

THEME

**Etude comparative d'Extraction et Caractérisation de
l'huile essentielle de Cumin**

Présenté par :

Melle : **Briki Cherifa**

Membre du jury :

Melle : **Djelloul kouadri Fethia**

Examineur01 :R. Moumen

Examineur02: M. Hamidi

Promotrice: Mm HALIAMI.F/Z

Année Universitaire : 2019/2020

A decorative border with a repeating floral motif, featuring dark outlines of leaves and flowers with some pinkish-red accents, framing the central text.

Remerciements

« Louange à Allah qui nous a guidés à ceci. Nous n'aurions pas été guidés, si Allah ne nous avait pas guidés »

[Sourate 7. Al Araf verset 43]

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à Monsieur R. Moumen pour avoir accepté de présider le jury. Ma reconnaissance, et mes sincères remerciements vont à mon encadreur Madame Halaimi F/Z pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa compréhension, sa disponibilité constante m'ont été d'une précieuse aide. Je tiens à remercier également Monsieur M. Hamidi pour avoir accepté d'examiner mon travail. Je tiens à remercier également tous mes enseignants pour leurs bonnes orientations et pour leur aide précieuse. Je tiens à remercier également tous mes étudiants de chimie pharmaceutique du département de science de la matière de l'université Khemis meliana



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Pour Mon grand-père ; ma
grand-mère khadra que Allah
ait pitié d'elle, Ma mère Lila
et mon père Mahfoud,
Mes tantes, mes frères, mes
sœurs et toute ma famille, Mes
collègues et mes amis.

CHERIFA



Dédicace :

Je remercie tout d'abord **Allah**
le tout puissant miséricordieux,
qui m'a donné le courage et la patience
de finir ce travail.

Je dédie ce travail :

A ma cher mère Zahra et mon père Abbas, je
vous remercie pour le soutien financier, moral
et l'encouragement que vous m'avez accordé.

A mes sœurs et mes frères surtout Fella et
son fils Abd elssalem Mes chères amies :
Nadjet et Marwa.

FETHIA
FETHIA

Liste des figures

Figure I.1 : La plante de cumin <i>cuminum</i>	10
Figure I.2 : La tige du plant de cumin	10
Figure I.3 : Les feuilles de la plante de cumin.....	11
Figure I.4 : Les fleur du Cumin	11
Figure I.5 : Les graines de cumin.....	12
Figure II.1: Etapes de l'obtention d'une huile essentielle.....	17
Figure II.2: Les classes des constituants des huiles essentielles.....	20
Figure II.3: Les terpénoïdes susceptibles de présenter des activités antibactériennes	20
Figure II.4: Schéma du montage d'entraînement à la vapeur d'eau.....	24
Figure II.5: Schéma du montage d'hydrodistillation	25
Figure III 1 : Les échantillons avant et après broyage Les grains de cumin	30
Figure III 2 : Montage expérimental d'hydrodistillation.....	30
Figure III.3: Réfractomètre	32
Figure III.4 : Dispositif de mesure d'indice d'acide.....	33
Figure III.5 : Appareil de chromatographie en phase gazeuse.....	35
Figure IV.1 : L'évolution du rendement d'HE (A) en fonction du temps.	37
Figure IV.2 : L'évolution du rendement d'HE (B) en fonction du temps.	37
Figure IV.3 : Chromatogramme de l'huile essentielle de cumin (pure) (A)	40
Figure IV.4 : Chromatogramme de l'huile essentielle de cumin (pure) (C)	41

Liste des Tableaux

Tableau I.1 : Classification botanique.....	13
Tableau I.2 : Les principaux composés d'HE de cumin.....	14
Tableau II.1 : Classification les fonctions isoprène.....	21
Tableau II.2 : Fonctions de carbures.....	22
Tableau II.3 : Fonction des alcools.....	22
Tableau II.4 : Fonction de cétones	22
Tableau II.5 : Fonction des esters.....	23
Tableau IV.1 : Rendement de l'essence du cumin de (B) et (C)	36
Tableau IV.2 : Caractéristiques organoleptiques de cumin entre (A .B et c)	38
Tableau IV.3 : Résultats de densité relative d'HE de(A) et (B).	38
Tableau IV.4 : Résultats d'indice de réfraction d'HE de(A), (B) et (C).	39
Tableau IV.5 : Résultats d'indice d'acide d'HE de(A) et (B).	39
Tableau IV.6 : Constituants majoritaires de l'essence de cumin Algérien (A)	40
Tableau IV.7 : Constituants majoritaires de l'essence de cumin India (C)	41
Tableau IV.8 : Test de DPPH	42
Tableau IV.9 : Les mesures de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle (A)	42
Tableau IV.10 : Les mesures de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle(B).	43

Sommaire

I. REMERCIEMENTS

II. DIDICACE

III. RESUME

IV. LISTE DES FIGURES

V. LISTE DES TABLEAUX

Introduction générale.....	8
-----------------------------------	----------

Chapitre I : présentation les plantes étudiées

I.1. Historique du cumin.....	9
I.2. Description botanique de la plante du cumin.....	9
I.3. Origine et Distribution de cumin	12
I.4. Classification botanique	13
I.5. Composition chimique	13
I.6. Autres indications thérapeutiques démontrées	14
I.7. Usage traditionnel	16

Chapitre II : Généralités sur l'huile essentielle

II .1. Définition d'huiles essentielles.....	17
II. 2. Critères de qualité des huiles essentielles.....	18
II. 3. Composition chimique des huiles essentielles.....	18
II .4. Principales technique d'extraction.....	23
II .5.Méthodes d'analyses des huiles essentielles.....	25
II .6. Les activités antioxydants.....	25
II. 7. Les activités biologique d'huiles essentielles.....	26
II .8.Facteurs déterminants le degré d'activité	26
II .9. Mode d'action des huiles essentielles.....	27
II .10. Propriétés physico-chimique.....	27

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1.Objectif.....	29
III.2. Protocole expérimental.....	31
III.3. Le calcul de rendement	31

III.4. Etude de la cinétique d'extraction 31

III.5. Caractérisation des huiles essentielles extraites..... 32

Chapitre IV : Etude comparative entre trois travaux d'extraction de HE

**IV.1.Résultats du rendement de l'extraction des huiles essentielles de
cumin..... 36**

IV.2. Résultats d'étude de la cinétique d'extraction..... 36

IV .3. Caractéristiques organoleptiques..... 38

IV.4. Propriétés physico-chimique..... 38

IV 5. Composition de l'huile essentielle..... 39

IV.6.Activité antioxydant 42

IV 7. Activité antibactérienne 42

Conclusion..... 44

Référence bibliographique..... 45

الملخص

تعتبر دراسة النباتات العطرية والطبية و استخلاص مكوناتها للاستخدام العلاجي مجالاً بحثياً يشهد تطوراً و نمواً متزايداً الأهمية . يهدف بحثنا الى دراسة مقارنة بين نتائج استخلاص الزيوت الأساسية من بذور الكمون على المستوى المحلي و الخارجي حيث تمت عملية الاستخراج عن طريق التقطير المائي فكان المردود حوالي بالنسبة للجزائر و3.66% و 0.72% بالنسبة للهند.

كما بين التحليل الكروماتوغرافي و الطور الغازي المزوج بمطابقة ان المركب الاساسي عبارة عن ألدهيد الكمون والكيمينول .

كما بين النشاط المضاد للجراثيم ان الزيوت نشطة للغاية ضد البكتيريا التي تم اختبارها.
الكلمات المفتاحية: نبات الكمون. زيوت أساسية. التقطير المائي. مضاد الجراثيم. مضاد الاكسدة.

Résumé

L'étude des plantes aromatiques et médicinales et leurs extraction à usage thérapeutique est un domaine de recherche qui connaît un développement et une croissance de plus en plus important.

Notre étude vise à comparer les huiles essentielles extraites des graines de plante aromatique du cumin locale et externe. Les rendements d'extraction en algerie est d'environ 3,66% et 0,72% pour l'Inde.

L'analyse CPG/GM montre que le composé principale est un aldéhyde de cumin et cuminol.

L'activité antibactérienne a montré que les huiles sont très actives contre les bactéries testées.

Mot clés : Cuminum cyminum, huiles essentielles, hydrodistillation, antioxydant, antibactérienne.

Abstract

The study of aromatic and medicinal plants and their extracts for therapeutic use is a field of research which is experiencing more and more development and growth.

Our study aims to compare the essential oils extracted from the seeds of local and external cumin aromatic plant. The extraction yields in Algeria are around 3.66% and 0.72% for India.

CPG / GM analysis shows that the main compound is a cumin aldehyde and cuminol.

The antibacterial activity showed that the oils are very active against the bacteria tested.

Keywords: Cuminum cyminum, essential oils, hydrodistillation, antioxidant, antibacterial.

Introduction générale

Introduction générale

Le secteur des huiles essentielles a disposé d'une croissance rapide durant ces dernières années, cela du à la variabilité des applications de ces extraits naturels dans diverses industries en médecine, dans la composition des parfums, cosmétiques et l'agroalimentaires. Aujourd'hui ces extraits de plantes sont d'une importance économique considérable dans le marché national et international grâce à la pluralité de leurs activités.

Les plantes ont toujours occupé une place importante dans plusieurs domaines comme la médecine et le cosmétique. En effet, elles peuvent contenir des principes actifs possédants des effets pharmacologiques.

Le rôle de la médecine traditionnelle dans le traitement ou la prévention des problèmes de santé est inestimable au niveau mondial les plantes médicinales continuent de fournir des agents thérapeutiques intéressants, à la fois pour la médecine moderne et traditionnelle. En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes. Pour cela, des travaux de recherche sur ces plantes médicinales iront un chemin dans l'exploration scientifique pour les bénéfices de l'homme.

Dans cadre des études chimiques des plantes médicinales nous avons étudié une plante « cumin » de la famille ombellifère, qui dispose d'une réserve de molécules actives, la séparation et la purification des familles Apiacées, de cette plante par les méthodes de hydrodistillation

Le cumin (*Cuminum Cyminum* L.) occupe une place proéminent, c'est une plante annuelle appartenant à la famille Ombellifères, utilisée généralement comme additif, mais également elle possède une variété d'activités pharmacologique telles que les effets antioxydant, antibactérienne, anti –hyperglycémiant, anti-carcinogène, cholagogues et stomachiques .

Une étude comparative d'extraction de l'huile essentielle de cette plante par l'hydrodistillation(HD). Afin de connaître son effet sur l'aspect quantitatif de l'essence obtenue.

Dans ce contexte, le présent travail à été entrepris afin d'étudier la composition chimique et Caractérisation des extraits de la plante médicinale « cumin ».

En **conclusion**, nous énumérons les résultats obtenus à travers cette étude comparative à envisagerons quelques perspectives de la poursuite du travail.

Chapitre I

**Présentation les plantes
étudiées**

Les plantes aromatique et médicinale peuvent être utilisées dans différents domaines pour leur propriétés thérapeutique ,organoleptique et odorantes ou encore pouvant être utilisées comme source d'isolats pour les héli synthèses .Ces plantes aromatique sont, donc, à l'origine des produits à forte valeur ajoutée (huiles essentielles, extraits, résinesetc) qui se présentent presque toujours comme des mélanges complexes dont il convient d'analyser la composition avant leur éventuelle valorisation le cumin comme toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des employas thérapeutiques, cela grâce à la présence d'un certain nombre de substance actives dont la plus part agissent sur l'organisme humain^[1].

I.1. Historique du cumin

Au temps des anciens Egyptiens, le cumin était l'une des épices les plus utilisées^[2]. Originnaire de la vallée du Nil, le cumin est également mentionné dans l'Ancien Testament et il faisait partie de la plupart des recettes culinaires des Romains ou cette épice était très recherchée.

Les Arabes l'utilisait comme drogue en confectionnant un aphrodisiaque avec du cumin, du miel et du poivre ; ils en prenaient plusieurs fois par jour.

Du coté des croyances, le cumin avait même des vertus protectrices contre les mauvais sorts.

I.2. Description botanique de la plante du cumin

Le cumimun cyminum est une plante mince, glabre, herbacée de la famille des ombellifères (Apiacées, dicotylédone). Elle peut atteindre une hauteur de 20 jusqu'à 60 cm. Cette plante possède des racines effilées, des feuilles vertes, très fines, palmatiséquées à lanières longuement filiforme et des petites fleurs, 3 à 5 par ombellules ayant une couleur blanche ou rose^[1].

Leur secteur est hauts plateaux Algérois et Oranais, sous secteur de l'Atlas saharien oranais, sous secteur des hauts plateaux Constantinois, est méditerranéen.

Le fruit du séché (appelé aussi graine) à une couleur verte pale qui tend vers le brun doré, possédant une forme elliptique^[3], d'une longueur comprise entre 5 et 6 mm, hérissés de longues soies dressées ; elle est rayée, portant 9 arêtes et 9 canaux sécréteurs^[4].

Son apparence et son rapprochent de celui du carvi, mais en faisant une observation minutieuse, on remarque que le cumin possède une forme ovale et sa couleur verte est plus -foncée par rapport à celle du carvi^[5].



Figure I.1 : La plante de cumin cyminum

I.2.1. Caractéristiques morphologiques

a)La tige

La tige du plant de cumin est droite striée et rameuse, de 30cm de hauteur^[6]. Cette dernière est grêle et porte des feuilles découpées en fines lanières (Figure I.2), et des ombelles fructifères^[6].



Figure I.2 : La tige du plant de cumin

b) La feuille

Les feuilles de cumin sont molles et de couleur Vert foncé, elles sont alternes, généralement disposées en croix et très finement découpées en lanière à stries linéaires (Figure I.3) ; Les feuilles basales sont généralement divisées en deux parties avec des segments de forme ovale, incisés et dentés^[7]



Figure I.3 : Les feuilles de la plante de cumin (*Cuminum Cyminum* L.)

c) La fleur

Les fleurs de cumin sont de petites tailles, blanches ou rosées, disposées en ombelles (Figure I.4). Les involuclles regroupent 1 à 2 bractées filiformes ; le calice est réduit à 5 sépales dépourvus de limbe, la corolle comporte 5 pétales blancs ou rosés, les étamines sont au nombre de 5, le gynécée est surmonté de 2 styles, l'ovaire est infère et bicarpellé.



Figure I.4 : Les fleurs du Cumin (*Cuminum cyminum*)

d) Le fruit

Le fruit du cumin est un diakène (Figure I.5) étroits et fusiforme, de 6mm de long sur 1,5mm de large, plus rétréci à la base ; il est formé de deux méricarpes accolés et surmontés du reste du calice et de style divergent, divisé en deux branches arrondies à leur extrémité ; ces méricarpes sont au départ unis et portés sur une colonne centrale prolongeant le réceptacle floral (carpospore)^[7]. Il dégage une forte odeur rappelant celle du fenouil.



Figure I.5 : Les graines de cumin.

I.3. Origine et Distribution de cumin

Le cumin est un épice ancestrale, se référant près de 5000 ans à l'ancienne civilisation égyptienne^[8], il est le connaître comme une épice d'Iran, le nom cumin a ses racines dans le mot kerman, une ville en Iran autour de laquelle elle a été largement cultivée. Appelé kermun, kumun, puis cumin dans les langues européennes. Le *C. cyminum* fut rapidement propagé dans l'ensemble des pays européens en Grèce et à Rome (ils étaient utilisés comme une sorte de poivron), puis les explorateurs espagnols, portugais, jusqu'en Amérique. Actuellement, il est largement cultivé en Ouzbékistan, Tadjikistan, Turquie, Maroc, Égypte, Inde, Syrie, Mexique, et au Chili. En Algérie, il est généralement localisé dans les hauts plateaux Algérois Oranais, Constantinois, et l'Atlas saharien.

Le cumin est cultivé en Afrique du Nord et au Sud-ouest de l'Asie ; dans des sols légers, bien drainés, au soleil. On cueille ses graines à la fin de l'été, lorsqu'elles sont mures.

I.4. Classification botanique

Classement se réfère à la classification botanique antérieure^[9], il est regroupé dans le (tableau I.1)

Tableau I.1 : Classification botanique

Règne	Plantes
Embranchement	Spermaphytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Apâlies
Famille	Apiacées
Genre	Cuminum
Espèce	Cuminum cyminum L

I.5. Composition chimique

Les principaux composants chimiques de cumin c'est :L'HE de C. Cyminum contient une fraction des monoterpènes oxygénés représentés principalement par le cumin aldéhyde (14-50%), et (13.62%) d'hydrocarbures^[10]. Les grains de cumin contiennent environ 15% d'huile fixe constituées essentiellement de triglycérides (55%) d'esters de stérol (25%) et d'acides gras libres (10%).elles contiennent aussi 2,5 à 10% d'huile essentielle, constituée de 25 à 35 % d'aldéhyde cuminique, de l'aldéhyde hydro cuminique, de l'alcool cuminique, de terpinéol, dipentène et du pinène.

On peut citer quelques constituants de l'huile essentielle du cumin^[6] :

α et β -pinène, α , β et γ terpinène, l'aldéhyde cuminique, 1,3-p-menthadien-7-al. Quel que soit la technique d'extraction utilisée, il faut noter une forte prédominance de la fraction monoterpénique. Elle est beaucoup plus élevée dans l'huile essentielle obtenue par HD (classique ou assistée par micro-ondes) que dans celle extraite par la VAP-MO. La VAP-MO permet une meilleure extraction des composés oxygénés par rapport aux composés aromatiques non oxygénés comparativement à HD et HD-MO. Le cumin aldéhyde est le composé majoritaire obtenu avec des teneurs appréciables à 19,4% ; 19,94% et 17,94% par les procédés HD, HD-MO et VAP-MO respectivement.

Le tableau suivant représente les principaux composés d'HE de cumin :

Tableau I.2 : les principaux composés d'HE de cumin
α –Pinène
β –Pinène
α –Phellandrène
p-Cymène
γ -terpinène
Cumin aldéhyde
α –terpinèn-7-al
γ –terpinèn-7-al
p-Cymèn-7-ol
Carvacrol
p-Mentha-1,4-dien-7-ol
Daucène*
(E) –Caryophyllène
α -trans-Bergamotène
Spirolépechinène*
γ - Curcuméne
Premnaspodiène*
Caryophyllène oxide
Carotol

I.6. Autres indications thérapeutiques démontrées

Le cumin aurait une action préventive dans les pathologies cancéreuses, en particulier du cancer de l'estomac et du foie. On lui attribue une action protectrice du système cardio-vasculaire^[11]. Il peut être prescrit pour une femme qui allaite du fait de son caractère galactogène. En outre, il activerait la libido.

En résumé, le cumin est : antalgique, anti-inflammatoire, antispasmodique et antipyrétique. On l'emploie pour soulager les digestions difficiles, douleurs menstruelles, gastrites, inflammations rhumatismales, hépatites et fièvre^[12].

a) Action contre le cholestérol

De nombreuses études ont montré les vertus anti cholestérols du cumin. A chaque fois, le groupe prenant du cumin voyait une amélioration du taux de cholestérol par rapport au groupe prenant placebo^[13]. Une étude où le premier prenait 2 fois par jour 75 mg de cumin pendant huit semaines a permis de mettre en évidence une diminution significative des triglycérides.

b) Action contre le diabète

Plusieurs études ont montré l'effet bénéfique du cumin sur le diabète de type 2.

Une étude a été menée en Inde a montré que l'administration de poudre de cumin à des rats atteints de diabète a retardé la progression de la cataracte, maladie oculaire très fréquente chez les diabétiques, causées par l'hyperglycémie^[14].

c) Action Contre les rhumes

Pour aider à soigner un rhume, on peut employer le cumin qui possède des vertus antiseptiques et antivirales, ça accélère la guérison en tout cas^[6]. C'est un excellent remède de grand-mère qui agit comme désinfectant et aide à combattre les infections virales qui causent le rhume.

d) Action contre l'anémie

Une cuillère à café de cumin en poudre contient en moyenne 1,4 mg de fer, ce qui correspond à plus de 17.5% de l'apport journalier recommandé (AJR) en fer pour un adulte^[15].

Il existe peu d'aliments aussi riche en fer que le cumin, ce qui en fait une bonne source, même dans les quantités minimales que l'on utilise pour aromatiser les plats.

e) Action anti-inflammatoire

Le cumin possède des vertus anti-inflammatoires permettant d'inhiber l'inflammation, notamment rhumatismales. Il pourrait donc être utile dans le traitement des maladies inflammatoires^[16].

f) Action sur les menstruations

Le cumin facilite les règles menstruelles, grâce à ses propriétés emménagogues favorisant la circulation sanguine dans l'utérus^[17].

g) Effet hypolipimiant

L'administration orale de l'extrait aqueux du cumin pendant 6 semaines aux rats diabétiques d'alloxane, a eu comme conséquence une réduction considérable du glucose, de l'hémoglobine glycolysée et l'empêchement de la diminution du poids corporel. Le traitement a provoqué aussi une réduction du

Cholestérol, des phospholipides, des acides gras libres et des triglycérides dans la plasma et les tissus.

h) .Effet anti-carcinogène

En présence d'un carcinogène du colon le 1,2-diméthyl hydrazine (DMH)^[18], l'activité des mucinases et des β -glucuronidases est sensiblement augmentée.

Cette augmentation a comme conséquence une hydrolyse des mucines protectrices du colon et des glucuronidases conjugués. L'hydrolyse des glucuronides libère des toxines, ce qui peut engendrer le risque d'un cancer du colon. Des travaux sur des rats, ont montré que le cumin peut protéger le colon en diminuant l'activité des mucinases et des β -glucuronidases en présence ou en absence du DMH.

l) .Effet anti-hyperglycémiant

A été étudié sur 27 lapins sains administration gastrique de l'eau, de tolbutamide et des préparations traditionnelles de 12 plantes comestibles. Pour ce but une solution de dextrose a été infusée en sous-cutanée. Le cumin a montré des diminutions significatives pour chaque point de tolérance du glucose^[19].

I.7. Usage traditionnel

Le cumin est traditionnellement connu en phytothérapie pour ses qualités carminatives, antispasmodiques et anti-inflammatoires. Sa consommation est recommandée en cas de digestion difficile, flatulences, douleurs abdominales et stomacales, ainsi que pour le traitement des inflammations rhumatismales^[9]. C'est aussi une épice utilisée dans les cuisines indienne et nord-africaine.

Dans la médecine Iranienne ancienne, les fruits de la plante ont été utilisés pour le traitement du mal de dents et l'épilepsie.

Le cumin est utilisé dans le traitement des désordres digestifs : la dyspepsie, la diarrhée, et lutte contre les ballonnements et les coliques, des désordres respiratoires, le rhume, l'insomnie, la fièvre, l'hypertension, l'épilepsie, le diabète. Aussi de calmer les douleurs dentaires.

a)Utilisation interne :

Antalgique, anti-inflammatoire, antispasmodique, antipyrétique. Digestion difficile, douleurs et spasmes de l'estomac, gastrites, inflammations, rhumatismales, hépatites, fièvres^[12].

b) Utilisation externe

Antalgique : peut être utilisé en cataplasme pour traiter certaines douleurs abdominales (crampes stomacales) et menstruelles^[12].

Indications thérapeutiques usuelles est Pathologies gastro-intestinales, stimulation de l'appétit, gastro-entérites, parasitoses intestinales, régulateur de la menstruation^[11].

Chapitre II

**Généralités sur l'huile
essentielle**

II. 1. Définition d’huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydrodistillation ou par expression mécanique^[20]. Elles sont obtenue à partir de feuilles, de graines, de bourgeons, de fleurs de brindilles, d’écorces, de bois, de racines, de tiges ou de fruits^[21] mais également à partir de gommés qui s’écoulent du tronc des arbres. Les huiles essentielles sont obtenues par hydrodistillation. De nouvelles techniques permettant d’augmenter le rendement de production, ont été développées, comme l’extraction au moyen de dioxyde de carbone liquide à basse température et sous haute pression ou l’extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes^[22].

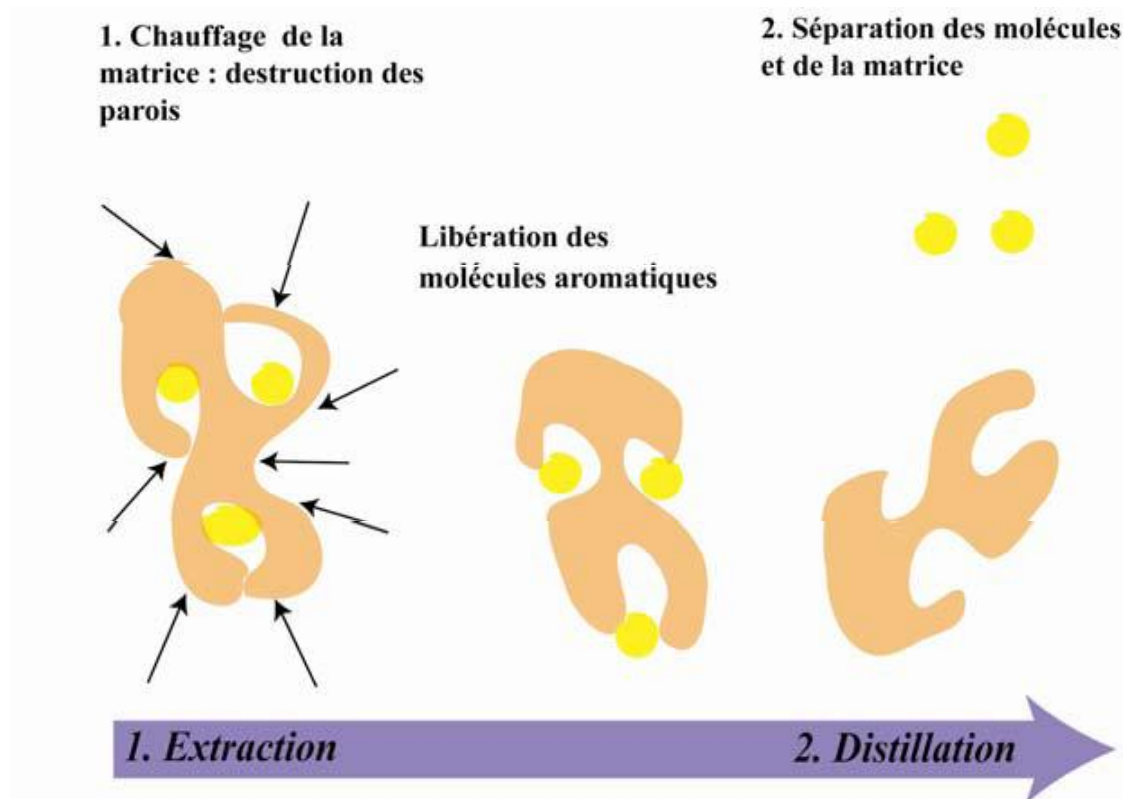


Figure II.1 : Etapes de l’obtention d’une huile essentielle

II .2.Critères de qualité des huiles essentielles

A rapporté que les critères définissent la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- ❖ La sélection de plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique.
- ❖ La chémotype (chimio type) représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de culture différentes, le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique et de la photopériode.
- ❖ La partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE.
- ❖ La période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale.
- ❖ La conservation l'HE : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants^[23].

II .3.Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont composées chacune d'un ou plusieurs groupes fonctionnels attachés à un squelette hydrocarboné. La plupart des groupes fonctionnels contiennent des hétéroatomes notamment de l'oxygène, les composés actifs peuvent être divisés en quatre groupes selon leurs structure chimique : composés d'environ 90% de terpènes, les alcools, les phénols, les esters, les oxydes, les coumarines, les sesquiterpènes, les terpinols, les cétones, aldéhydes, etc. Mais ne contenant aucun acides gras, ni aucuns autres corps gras^[24].

Ce sont les effets combinés de ces constituants et leurs proportions qui constituent l'identité propre à chaque huile, et qui déterminent leurs caractéristiques telles que l'odeur, les propriétés thérapeutique et la toxicité.

Les produits chimiques dans les huiles essentielles sont des métabolites secondaires, qui jouent un rôle important dans la défense des plantes comme ils possèdent souvent des propriétés antimicrobiennes^[25].

II .3.1.Les constituants des huiles essentielles

Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes^[26]. La classe des terpénoïdes est la plus variée

au niveau structural. Les terpénoïdes, dont 25 000 sont connus comme métabolites secondaires, dérivent du précurseur isoprénique à cinq carbones, l'isopenténylpyrophosphate. Les plus petits terpénoïdes sont les hémiterpénoïdes (C5), qui sont formés d'une seule unité isoprénique. Les autres molécules, appartenant à cette classe, résultent de la condensation de plusieurs isoprènes. Ainsi, les monoterpénoïdes (C10) sont constitués de deux unités isopréniques alors que les sesqui-terpénoïdes (C15) sont formés par l'association de trois isoprènes^[27].

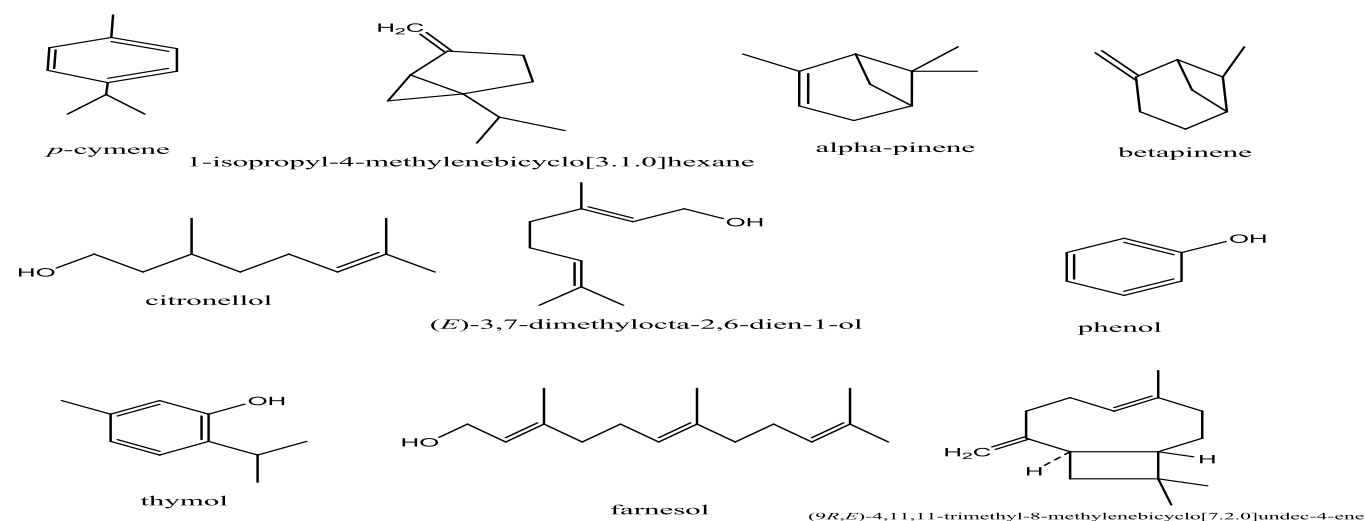
Les mono et les sesquiterpénoïdes sont les plus représentés dans les huiles essentielles.

Les phénylpropanoïdes, ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine^[28].

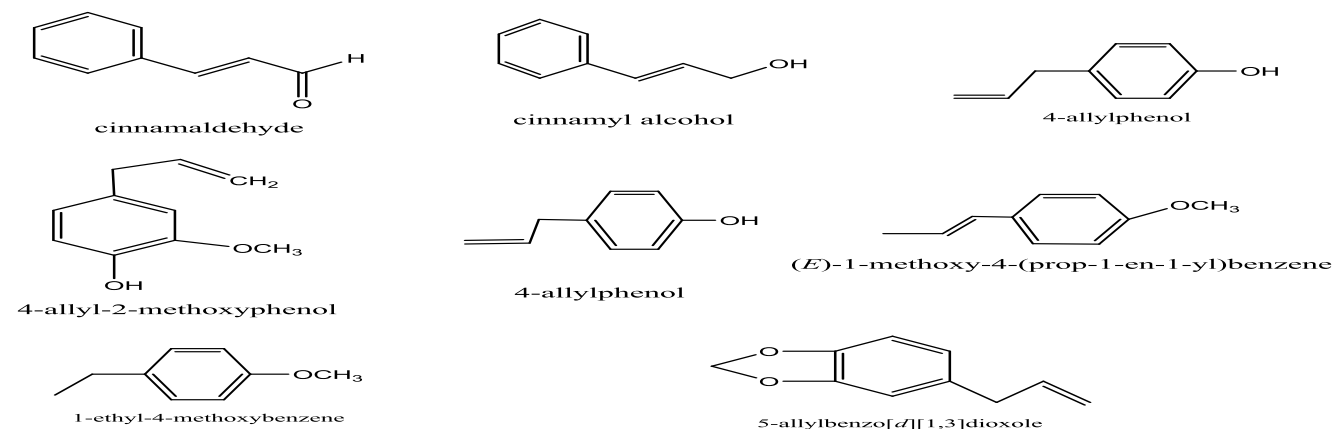
Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle (figure II.2).

1- terpènes

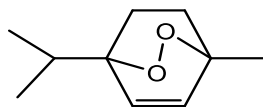
monoterpenes



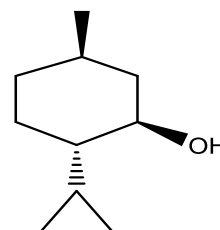
2- aromatique compounds



3- terpénoïdes (isoprnoïdes)



1-isopropyl-4-methyl-2,3-dioxabicyclo[2.2.2]oct-5-ene

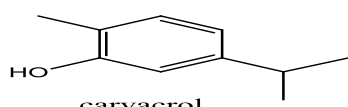


(1R,2S,5R)-2-isopropyl-5-methylcyclohexan-1-ol

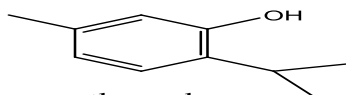
Figure II.2: Les classes des constituants des huiles essentielles

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes confèrent aux huiles essentielles leurs propriétés antibactériennes. L'activité de ces molécules dépend, à la fois, du caractère lipophile de leur squelette hydrocarboné et du caractère hydrophile de leurs groupements fonctionnels. Les molécules oxygénées sont généralement plus actives que les molécules hydrocarbonées.

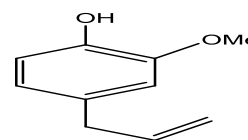
comme les huiles de thym, de *Corydthymus capitatus* et de *Syzygium aromaticum*, démontrent les plus hautes activités antibactériennes.



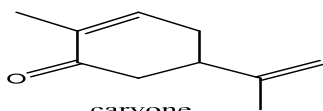
carvacrol



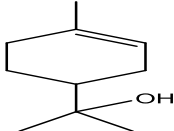
thymol



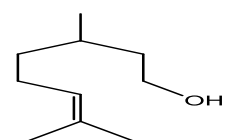
4-allyl-2-methoxyphenol



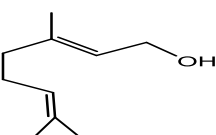
carvone



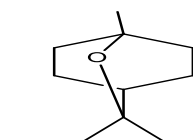
2-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol



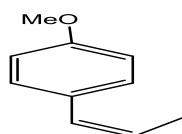
1-isopropyl-4-methylcyclohex-3-en-1-ol



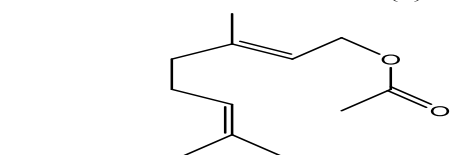
(E)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-ol



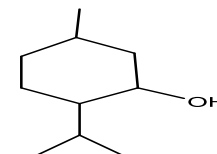
3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol



(Z)-1-methoxy-4-(prop-1-en-1-yl)benzene



(E)-3,7-dimethylocta-2,6-dien-1-yl acetate



2-isopropyl-5-methylcyclohexan-1-ol

Figure II.3: les terpénoïdes susceptibles de présenter des activités antibactériennes^[20]

La structure chimique des constituants des huiles essentielles influence directement leur activité.

D'autres groupements fonctionnels, comme les acétates, contribuent à accroître l'activité des molécules antibactériennes.

Les interactions entre les constituants des huiles essentielles peuvent également affecter leur activité.

II .3.2.Terpènes et terpénoïdes

Il s'agit d'une famille de composés largement répandus dans le règne végétal. Ils sont formés par la combinaison de 5 atomes de carbone (C5) nommée : isoprène^[29].

Ils sont classés selon :

Tableau II.1 : Classification les fonctions isoprènes

leurs fonctions	leur structure
- alcools (géraniol, linalol) - esters (acétate de linalyle) - aldéhydes (citral,citronellal) - cétones (menthone, camphre, thuyone) - éthers-oxydes (cinéole)	- linéaire (farnésène, farnésol) ou - cyclique - monocyclique (humulène, zingiberène), - bicyclique (cadinène, caryophyllène, chamazulène) ou - tricyclique (cubébol, patchoulol, viridiflorol).

Il convient à souligner que seuls les terpènes de faible masse moléculaire (mono R et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles^[30] leur conférant un caractère volatil et des propriétés olfactives.

a) Monoterpènes : ils sont constitués par le couplage de deux unités isopréniques (C10) et forment 90% des huiles essentielles avec une grande diversité de structures^[31]. Ils comportent plusieurs fonctions :

Tableau II.2 : Fonctions de carbures

Carbures		
Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
ex : myrcene, ocimene, etc.	ex : terpinenes, p-cimene, phellandrenes, etc.	ex : pinènes, camphen, sabinene, etc Ex : Huile essentielle de térébenthine : contient alpha-pinène et camphene.

Tableau II.3 : fonction des alcools

Alcools		
Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
ex: geraniol, linalol, citronellol, lavandulol, nerol, etc.	ex: menthol, a-terpineol carveol	Ex: borneol, fenchol, chrysanthenol, thuyan-3-ol, etc.

b) Aldéhydes

- Acyclique: ex : « geranial », « neral », « citronellal », etc.

Ex : Huile essentielle de citronnelle : contient « citral » et « citrannal ».

Tableau II.4 : fonction des cétones

Cétones		
Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
ex: tegetone, etc.	ex : menthones, carvone pulegone, piperitone, etc.	ex : camphor, fenchone, thuyone, ombellulone, pinocamphone, pinocarvone etc. Ex: Huile essentielle de sauge : contient thuyone.

tableau II.5 : fonction des esters

Esters		
Acyclique	Monocyclique	Bicyclique
linalyl acetate ou propionate, citronellyl acetate, etc.	menthyl ou a-terpinyl acetate, etc.	isobornyl acetate, etc. Ex: Huile essentielle de menthe bergamote : contient « acétate de linalyle ».

c) Ethers

ex : « 1,8-cinéole », « menthofurane », etc

Ex : Huile essentielle d'eucalyptus globulus : contient « eucalyptol ».

d) Peroxydes: ex : « ascaridole », etc.

Ex : Huile essentielle de chénopode : contient « ascaridol ».

e) Phénols: ex : « thymol », « carvacrol », etc.

Ex : Huile essentielle de thym : contient « thymol ».

f)- Sesquiterpènes : ils sont formés par l'assemblage de trois unités isopréniques (C15).

Cependant leur structure ainsi que leur fonction restent similaires à celles des monoterpènes.

II.4.3. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Ils sont beaucoup moins fréquents dans les huiles essentielles que les composés terpéniques.

Ils comprennent :

- **Aldéhyde:** « cinnamaldehyde », ex : huile essentielle de cannelle
- **Alcool:** « cinnamic alcohol »
- **Phénols:** « chavicol », « eugénol », ex: huile essentielle de girofle (eugénol)
- **Dérivés méthyloxy:** « anéthole », « élémicine », « estragole », « methyleugénols »,

Ex : huile essentielle de fenouil (anéthole)

- **Composés de méthylène dioxy:** « apiole », « myristicine », « safrole »

Ex : huile essentielle de persil (apiole).

II .4. Principales techniques d'extraction des huiles essentielles

Les principales méthodes d'extraction sont :

II .4.1. Méthodes d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

elles sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînaibles par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe^[32]. Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans le vase d'entraînement,

l'essence aromatique contenue dans la plante est chauffée, disloquée du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation.

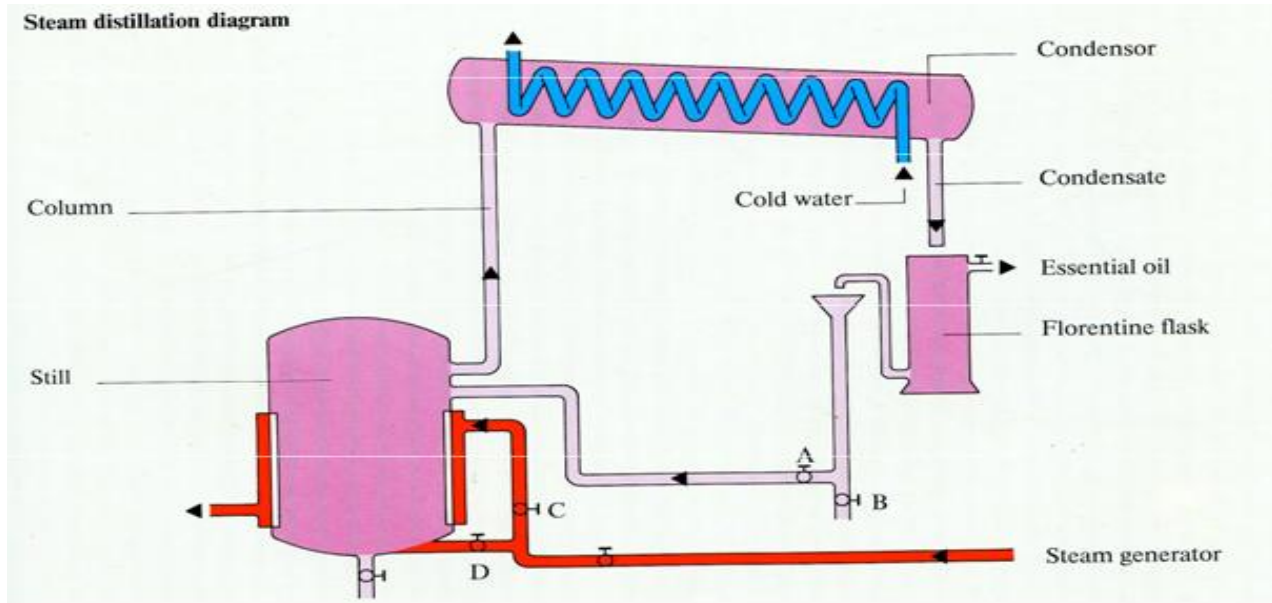


Figure II.4: Schéma du montage d'entraînement à la vapeur d'eau

II .4.2. Hydro diffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut vers le bas. Le principe est de dégager et de condenser en utilisant la pesanteur, l'azéotrope produit par la vapeur d'eau et dispersé dans la masse végétale.

II .4.3. Hydrodistillation (distillation à la vapeur)

Elle se produit dans l'appareil de clevenger, cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un alombic rempli d'eau distillée qui est ensuite portée à ébullition^[32]. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité.

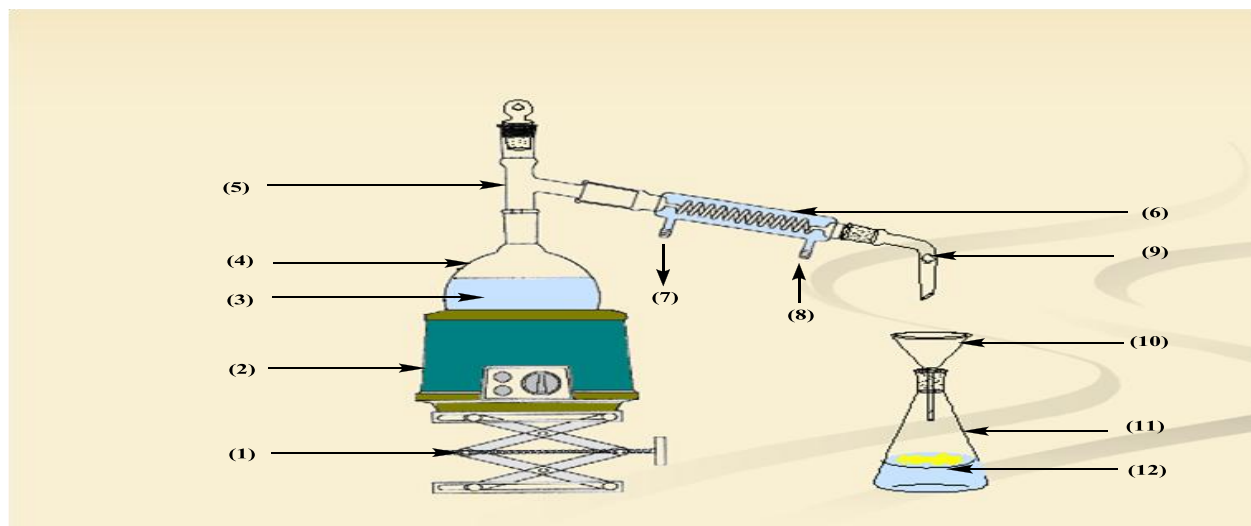


Figure II.5: Schéma du montage d'hydrodistillation

(1) : Support (2) : Chauffe ballon (3) : Matière végétale + Eau (4): Ballon à col court et à fond rond (5):T de distillation (6):Réfrigérant (7):Sortie d'eau de refroidissement (8): Entrée d'eau de refroidissement (9): Coude (10): Entonnoir (11): Erlenmeyer (12): Distillat

II .5. Méthodes d'analyses des huiles essentielles

Les méthodes d'analyses des huiles essentielles peuvent être classées en deux groupes distincts^[33]: Les analyses qui ont pour but de définir les caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester, etc.). Celles qui ont pour objet l'identification qualitative et quantitative, des différents constituants d'une huile essentielle (CPG, CG/SM, etc.).

La chromatographie en phase gazeuse est la technique la plus utilisée pour ce type d'analyse. Le chromatographe peut être couplé à différents types de détecteurs, les plus utilisés sont:

le détecteur à ionisation de flamme (FID), le détecteur de masse (SM) et de plus en plus le détecteur infrarouge à transformé de Fourier (FTIR)

II.6. Les activités antioxydants des huiles essentielles

De nombreuses huiles essentielles, comme les huiles de cumin, présentent un pouvoir antioxydant^[34]. Cette activité est attribuée à certains groupes fonctionnels en l'occurrence, les alcools, éthers, cétones et aldéhydes monoterpènes dont le γ -terpinène et l' α -terpinolène^[35], Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles est utilisé comme substitut dans la conservation alimentaire.

II .7. Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques, des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectant en tant qu'agents antimicrobiens et sont utilisés ainsi comme antibactériens et antifongiques^[36].

Beaucoup de plantes produisent les H.Es en tant que métabolites secondaires. Leur rôle exact dans le processus de la vie de la plante reste encore mal connu.^[37], les H.Es peuvent avoir plusieurs effets « utiles » pour la plante : repousser ou au contraire attirer les insectes pour favoriser la pollinisation, comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, permettant de conserver l'humidité des plantes désertiques, réduction de la compétition des autres espèces de plante par inhibition chimique de la germination des graines, par protection contre la flore microbienne infectieuse, action répulsive sur les prédateurs par goût et effets défavorables^[37].

II .8. Facteurs déterminants le degré d'activité des huiles essentielles

Plusieurs facteurs influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation antimicrobienne, le type et la structure moléculaire des composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganisme ciblés et leur éventuelle adaptation aux huiles essentielles^[28].

II .8.1. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'examen des données bibliographiques fait apparaître d'emblée la diversité des méthodologies Utilisées pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.

➤ Méthode de diffusion en milieu solide

Cette méthode est aussi appelée méthode de l'aromatogramme, ou technique de L'antibiotique aromatogramme ou encore méthode de Vincent. La diffusion de l'agent Antimicrobien dans le milieu ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien^[38].

➤ Méthode de dilution en milieu liquide

Le but des méthodes de dilution en bouillon et en gélose est de déterminer la concentration la plus faible de l'antimicrobien testé qui inhibe la croissance de la bactérie testée (la CMI, habituellement exprimée en mg/mL ou mg/L)^[39].

a). Dilution en bouillon

La dilution en bouillon est une technique dans laquelle une suspension bactérienne (à une concentration optimale ou appropriée prédéterminée) est testée contre des concentrations variables d'un agent antimicrobien dans un milieu liquide. La méthode de dilution en bouillon peut être effectuée dans des tubes contenant un volume minimum de 2 mL (macrodilution) ou dans de plus petits volumes à l'aide de plaques de microtitration (microdilution)^[39].

b) . Dilution en gélose

La dilution en gélose implique l'incorporation d'un agent antimicrobien dans un milieu gélosé à des concentrations variables, en général une dilution en série de β en β , suivie de l'ensemencement d'un inoculum bactérien défini à la surface de la gélose de la boîte^[39].

II .9. Mode d'action des huiles essentielles

Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne^[31]. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K^+). Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des microorganismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP

Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides. Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes: en général, les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif grâce à la structure de leur membrane externe^[40]. Ainsi, la membrane extérieure des Gram à négatif est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que ceux de Gram négatif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer.

Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable^[41].

II .10. Propriétés physico-chimiques :

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante mais aussi volatiles, ce qui les différencie des huiles dites fixes. Elles sont liposolubles et solubles dans les solvants organiques usuels ainsi que dans l'alcool, entraînaient à la vapeur d'eau mais très peu solubles dans l'eau^[41].

Elles présentent une densité en général inférieure à celle de l'eau et un indice de réfraction élevé. Elles sont pour la plupart colorées : ex : rougeâtre pour les huiles de cannelle et une variété de thym, jaune pâle pour les huiles de sauge sclarée et de romarin officinal. Elles sont altérables et sensibles à l'oxydation.

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1.objectif

L'objectif est l'extraction et caractérisation des huiles essentielles de plante aromatique «cumin»

Dans cette partie expérimentale ils ont présenté les axes de recherche est consacré à réaliser les étapes suivantes :

- L'extraction des huiles essentielles des espèces végétales.
- L'analyse organoleptique et physico-chimique des huiles essentielles extraites.
- Caractérisation des huiles essentielles par méthode chromatographique en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse (GC/MS)

Les principaux producteurs de cumin sont la Chine et l'Inde, qui produit 70% de l'offre mondiale et en consomme 90% (ce qui signifie que l'Asie du Sud consomme 63% du cumin mondial). Le Mexique est un autre grand producteur. Au total, environ 300 000 tonnes de cumin par an sont produites dans le monde.

Le cumin (*Cuminum cyminum*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Apiacées (Ombellifères).

Le cumin (ou *Cuminum* en latin) est originaire du Proche-Orient. Il y est apparu comme épice, à fumer ou pour apprêter des mets, puisque son goût est terreux lorsque non apprêté. Il est de la même famille que le persil. Les synonymes de cette épice sont nombreux et incluent le « cumin blanc », « cumin du Maroc » ou « faux anis ».

III.1.1. Préparation de l'échantillon solide pour l'extraction

➤ **Mondation** : cette étape permet d'éliminer les impurités contenus dans les échantillons afin de garder seulement les graines.

➤ **Broyage** : Le broyage des grains se fait à l'aide d'un moulin à café jusqu'à l'obtention d'une poudre (figure III 2).



Figure III 1 : Les échantillons avant et après broyage Les grains de cumin

-Un appareil hydrodistillation de type Clevenger, utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, il se compose de trois compartiments essentiels :

- ✓ Une chauffe ballon.
- ✓ Un ballon en verre à fond rond de 2 litre.
- ✓ Un réfrigérant.

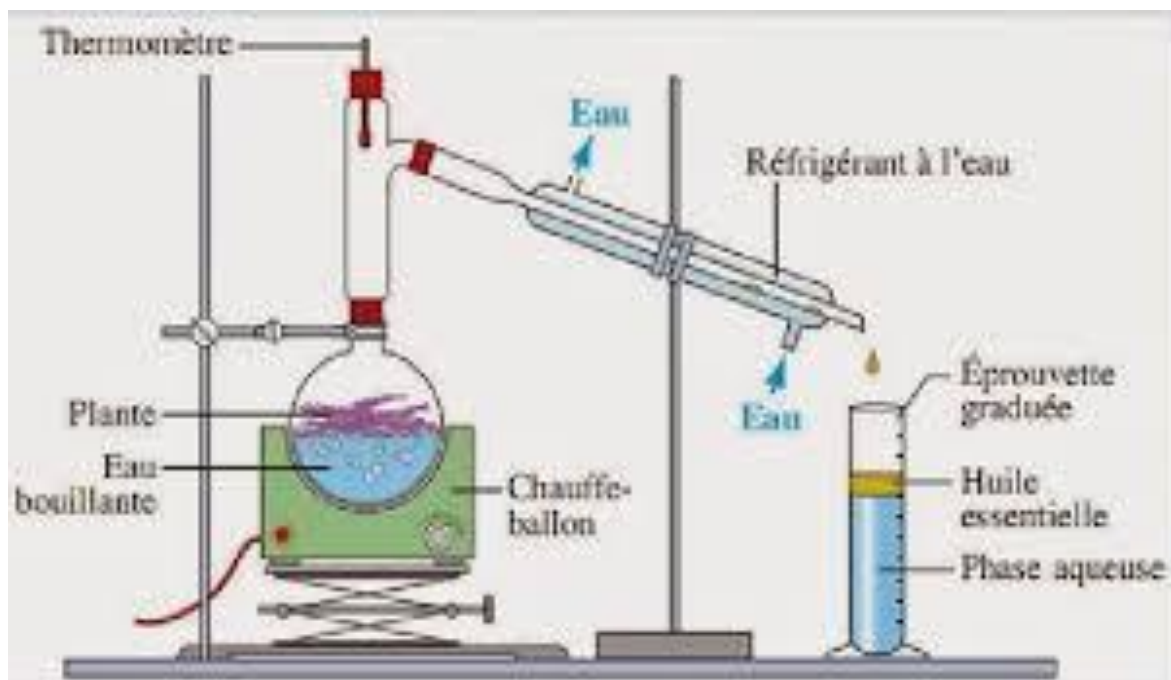


Figure III 3 : Montage expérimental d'hydrodistillation

-Des bocaux en verre pour récupérer les distillats.

-Ampoule à décanter pour la séparation de l'eau et huiles essentielles.

-Appareil de chromatographie en phase gazeuse à régulation électronique de pression type chromatopack CP 9002.

III.2. Protocole expérimental

Le matière séchée(végétal) est immergé dans un ballon en verre à fond rond de 2litre contenant de l'eau distillée, le tout est porté à ébullition, pendant (04h et demie) la vapeur d'eau formée au sein de l'eau bouillante entraine les constituants de huile essentielle, qui est recueillie après condensation et décantation.

III.3. Le calcul de rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée.

$$R_{HE} = (m_{HE}/m_{MVS}) \times 100$$

R_{HE} : Rendement de l'extraction en huile essentielle en%.

m_{HE} : La masse de l'huile essentielle en g.

m_{MVS} :L masse de la matière végétale séchée en g.

III.4. Etude de la cinétique d'extraction

L'étude de la cinétique d'extraction a pour but de déterminer le temps nécessaire au bout duquel il n'est plus rentable de poursuivre l'extraction, qualifié par le rendement maximum. Donc, la cinétique est le suivi de l'évolution de la quantité d'huile essentielle extraite en fonction du temps, pour cela et afin d'illustrer la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de Cuminum cyminum L. Par hydrodistillation, on a suivi la variation de la masse d'huile essentielle en fonction de temps jusqu'à l'extraction de la quasi-totalité d'huile essentielle.

III.5. Caractérisation des huiles essentielles extraites

La caractérisation des huiles essentielles se fait à fin d'évaluer la qualité de ils extraient, ils ont réalisé une étude analytique, tout d'abord en déterminant les caractéristiques organoleptiques, puis les propriétés physico-chimiques.

III.5.1. Caractéristiques organoleptiques

Après l'extraction, ils ont déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparer avec ceux de la norme AFNOR .

III.5.2. Détermination des propriétés physico-chimiques

Les HEs sont caractérisées par leurs propriétés physiques (densité relative, indice de réfraction) ainsi que par leurs propriétés chimiques (indice d'acide).

a) Densité relative d_{20}

C'est le rapport du poids d'un certain volume d'huile au poids du même volume d'eau distillée à la température 20°C. La masse des huiles essentielles a été déterminée par la pesé de 1ml à l'aide d'une balance électronique de précision à une température bien définit.

Où :

d_{20} = Densité à 20°C.

d_{θ} = Densité à la température de mesure.

θ = Température de mesure.

0.00068 : Constante de variation de la densité quand la température varie de 1°C.

b) Indice de réfraction I_{20}

La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre de marque KRUSS (figure III.4).



Figure III.4: Réfractomètre

Après nettoyage de l'appareil, on place 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. Puis on regarde dans l'oculaire et le mesure se fait en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, finalement on note la valeur de l'indice et la température de mesure. Une formule empirique permet d'évaluer l'indice de réfraction d'un liquide à 20°C quand on l'a mesuré à une température légèrement différente :

$$I_{20} = I_{\theta} + 0.00045 * (\theta - 20^{\circ}\text{C})$$

Où :

I_{20} : Indice de réfraction à 20°C.

I_{θ} : indice de réfraction à la température de mesure.

θ : Température de mesure.

0,00045 : Constant de variation de l'indice d'acide quand la température varie de 1°C.

c) Indice d'acide Ia

Les acides libres contenus dans les huiles essentielles sont neutralisés par une solution titrée de KOH, c'est-à-dire la mesure de l'indice acide est réalisée par un simple titrage (figure III.5)



Figure III.5 : Dispositif de mesure d'indice d'acide

1g d'huile essentielle est introduit dans une erlenmeyer de 25ml ; on ajoute 5ml d'éthanol absolue à 99,8% et 3 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine à 0,2%. Puis on neutralise la solution obtenue avec l'hydroxyde de potassium à 0,1N. A la fin on prend le volume exact de KOH consommé pour le calcul de l'indice d'acide par la relation suivante :

$$I_a = (5,61 \cdot V_{\text{KOH}} / m_h)$$

I_a : Indice d'acide

V_{KOH} : Volume d'hydroxyde de potassium en (ml).

m_h : Masse d'huile essentielle en gramme.

III.5.3. Analyse d'huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse, est un cas particulier de chromatographie de partage utilisée pour l'analyse de petites molécules volatiles. La chromatographie en phase gazeuse, repose sur la migration différentielle de composés entre deux phases non miscibles; une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile (gaz vecteur), qui traverse cette phase stationnaire.

Après l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation, la séparation des composés est faite par chromatographie en phase gazeuse. Les analyses chromatographiques sont effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse à régulation électronique de pression type Chrompack CP 9002, l'appareil est équipé d'une colonne capillaire de type Sil 8CB (5% Phényle+95% diméthylpolysiloxane) de 30 cm de longueur, 0,32 mm de diamètre intérieur et 0,25 µm d'épaisseur de film, d'un détecteur FID réglé à 280°C et alimenté par un mélange de gaz H₂/air et d'un injecteur SPLIT 1/100 réglé à 260°C,

.Le gaz vecteur est l'azote à 1ml/min. La température de la colonne est programmée de 50°C (3mn) à 220°C (30mn). La quantité injectée est 05 µl. La vitesse de papier est 0,5 cm /mn. (Figure III 5).

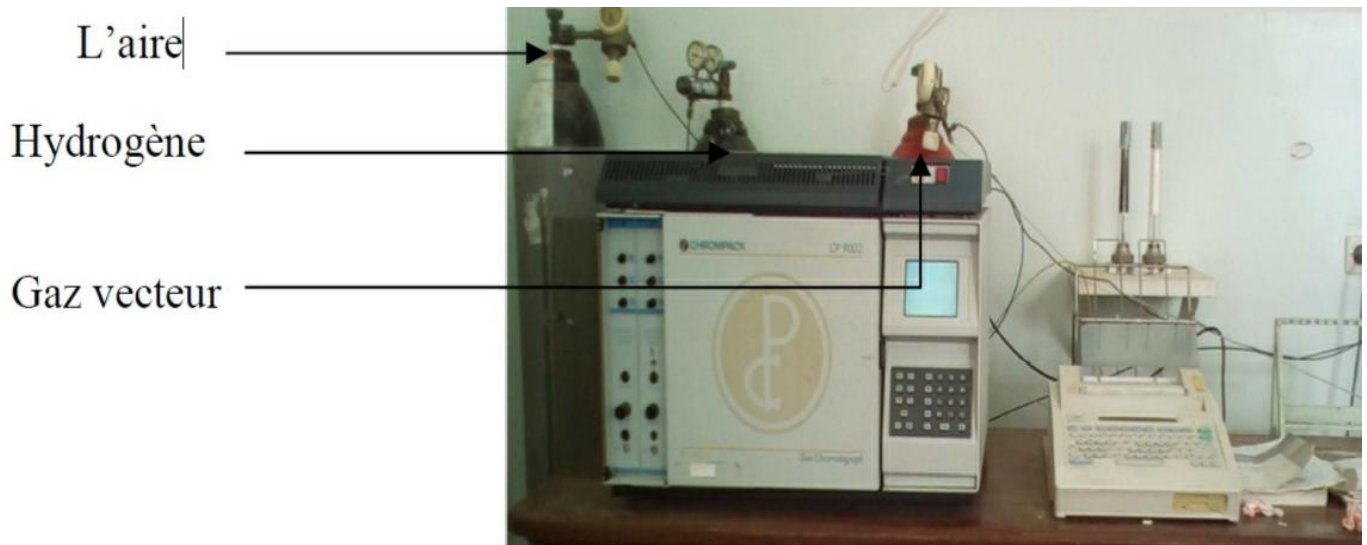


Figure III.5 : Appareil de chromatographie en phase gazeuse^[1]

III.5.4. Effet antioxydant

On peut définir les antioxydants comme des molécules qui empêchent ou diminuent l'oxydation d'autres molécules. Une réaction d'oxydoréduction, dont fait partie l'oxydation, assure le transfert des électrons d'une molécule donnée vers un agent oxydant. Il existe plusieurs méthodes pour évaluer le pouvoir antioxydant in vitro, parmi eux Vous avez choisi d'appliquer la méthode de piégeage de radical libre 2,2-diphényle-1-picryl-hydrazyl (DPPH) vu sa simplicité, rapidité, sensibilité et sa reproductibilité.

III.5.5. Effet antibactérien

Vous avez choisi d'évaluer l'effet antibactérien de nos huiles essentielles par la méthode de diffusion en milieu solide, appelée aromatogramme ; car elle est relativement rapide, peu coûteuse, facilement reproductible et ne nécessitent pas un équipement de laboratoire sophistiqué.

Chapitre IV

Résultats et discussions

Résultat et discussion de Etude comparative entre l'extraction de cumin en niveau de l'Algérie (A) : (Dridi Feryel, extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'une pommade de congestionnant université de boumerdes 2006 et (B) : (YACOUB Rahma, TLIDJANE Imane , Caractérisation physico-chimiques et analyses biologiques de l'huile essentielle des grains de *Cuminum cyminum* L. et de *Foeniculum* : supercritique 2extraite par hydrodistillation et COMill. Vulgare Etude comparative université Oum el bouaghi 2018) (C): (Compositional and functional difference in cumin (*Cuminum cyminum*) essential oil extracted by hydrodistillation and SCFE 2016(C)) .

IV.1.Résultats du rendement de l'extraction des huiles essentielles de cumin

L'évolution du rendement en représentée comme suit :

Tableau(IV 1) : Rendement de l'essence du cumin de (B) et (C)

	Rendement en huile essentielle
A	2.25
B	3.66%
C	0,72

On a un rendement en huile essentielle de 2.25 % pour (A) et 3.66% pour (B) et 0,72 pou (C) .
Donc on peut dire que l'HE (B) est plus rentable que l'HE (A) et le rendement (C) très faible par rapporte le (A) et (B) .

IV. 2. Résultats d'étude de la cinétique d'extraction

Les résultats d'HE (A) et (B) ont été représentés graphiquement sur les figures (I) (II) :

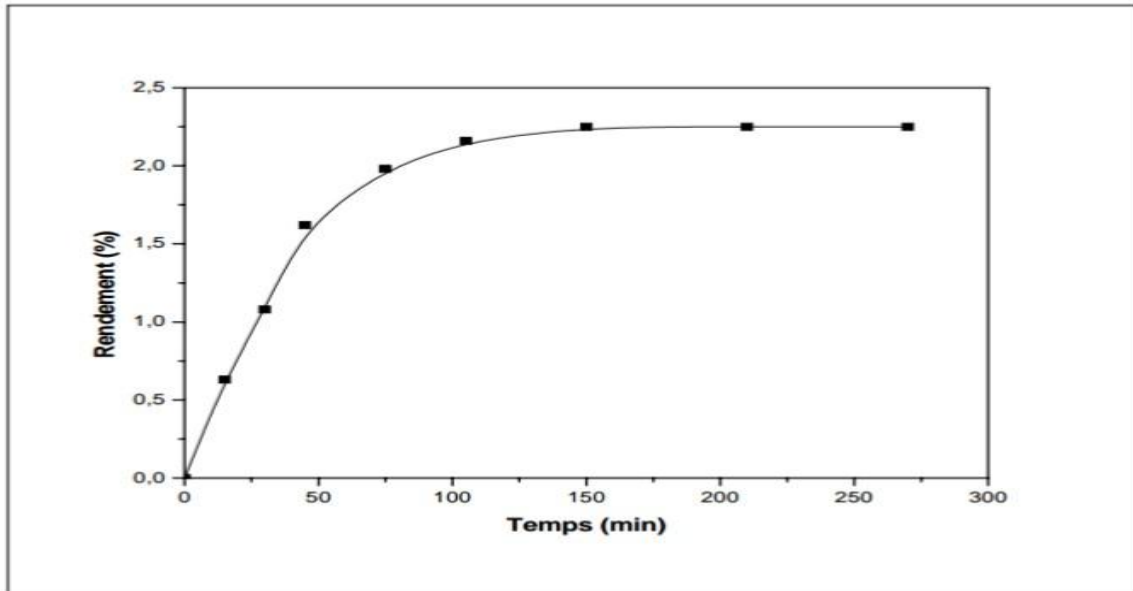


Figure (IV.1) : L'évolution du rendement d'HE (A) en fonction du temps.

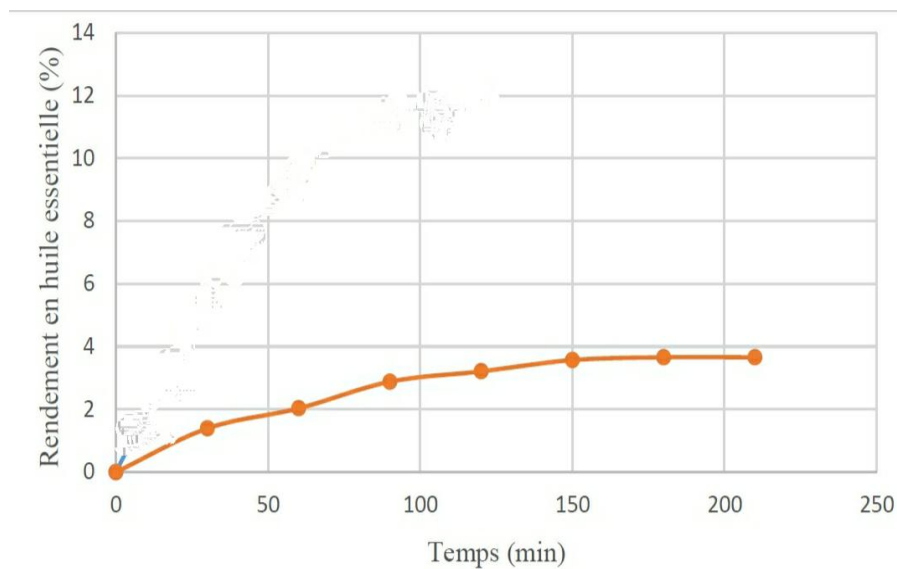


Figure (IV.2) : L'évolution du rendement d'HE (B) en fonction du temps.

Les deux figures précédentes représentent la variation du rendement en huile essentielle du cumin des HEs (A) et (B) en fonction du temps.

-La figure (I) montre que l'essentiel de l'huile essentielle est extrait lors des deux premières heures de traitement.

-La figure (II) montre clairement un temps d'extraction d'HE (B) d'environ (20min) fournit un rendement comparable à celui obtenu après (50min) d'HE (A).

-Le courbe d'HE (B) tend vers un palier qui correspond à (3.66%) et (2.25%) par le courbe d'EH (A) pour un temps d'extraction dépasse 200min. Donc on peut dire que on à obtenir d'HE (B) plus que l'HE (A).

IV .3. Caractéristiques organoleptiques

Tableau (IV.2) : Caractéristiques organoleptiques de cumin entre (A ,B et C)

Caractères organoleptiques	Aspect	Odeur	Couleur
A	Liquide	Odeur caractéristique épicée très forte e	Jaune
B	Liquide mobile	Caractéristique épicée aromatique	Limpide
C	Liquide	/	Jaune pale

On peut dire pour les caractéristiques organoleptiques de Trois huiles essentielles (A ,B et C) sont très différentes, elles sont de nature liquide certes. De couleur mais différentes, avec une odeur très caractéristique.

IV.4. Propriétés physico-chimique

IV.4.1. Densité relative

Tableau(IV.3) : résultats de densité relative d'HE de(A) et (B).

L'HE	Densité relative d_{20}
A	0.953
B	0.9104
C	/

IV.4.2. Indice de réfraction**Tableau (IV.4) : résultats d'indice de réfraction d'HE de(A) , (B) et (C) .**

L'Huile essentielle	Indice de réfraction I_{20}
A	1.5014
B	1.499
C	1,52

IV.4.3. Indice d'acide**Tableau (IV.5) : résultats d'indice d'acide d'HE de(A) et (B).**

L'HE	Indice d'acide I_a
A	5.61
B	1.683
C	/

On a les résultats des propriétés physico-chimique : la densité relative , réfraction et l'indice d'acide .

-Pour la densité relative les résultats sont très proches dans l'HE (A) et (B). Donc les deux huiles sont denses.

-On remarque que l'indice de réfraction d'HE (B) faible que celle obtenue par l'HE (A) et (C) . Donc on peut dire que l'HE (A) est pur que l'HE (B).

-La valeur d'indice d'acide d'HE (B) est comparable à la valeur d'HE (A), c'est valeurs affirment la bonne qualité de ces huiles essentielles.

IV 5. Composition de l'huile essentielle

La composition chimique de l'huile essentielle de cumin est indiquée Ils ont pu déterminer plus de 90% des substances dont l'huile de cumin est composée en utilisant les spectres de masse et les temps de rétention en utilisant comme référence Huile essentielle standard (annexe 1) .

Tableau (IV.6) : Constituants majoritaires de l'essence de cumin Algérien (A)

N°	constituants	Temps de rétention (min)	%
1	Béta pinène	9.900	5.07
2	p-Cymène	12.550	7.40
3	Gamma terpinène	14.650	5.24
4	Aldéhyde cuminique : p-isopropylbenzaldehyde	26.850	40.07
5	Myrtenal	29.650	11.25
6	1-phényle. 1,2-Ethanediol (1,2- dihydroxymethylbenzène).	30.283	27.89

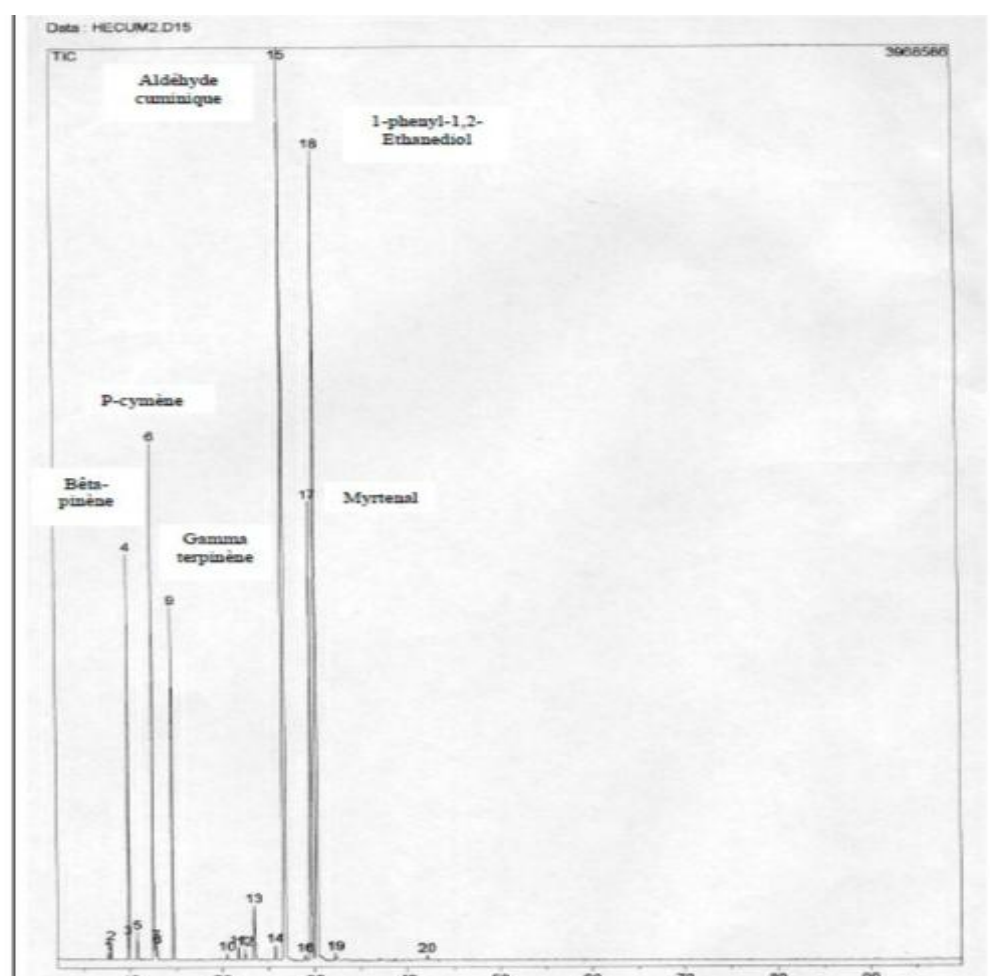


Figure IV.3) : chromatogramme de l'huile essentielle de cumin (pure) (A)

Tableau (IV.7) : Constituants majoritaires de l'essence de cumin L'India (C)

	Constituants	Temps de rétention
1	β -pinène	12.388
2	p-Cymène	16.466
3	γ -terpinène	20.169
4	Cuminic aldéhyde	36.640
5	phellandral	38.758
6	Carenal(2-carene-10-al)	40.025
7	Cuminic alcohol	40.489
8	carvacrol	41.138
9	γ -cadinene	45.674
10	β -farnesene	50.993
11	α -cubebene	51.342
12	γ -curcumene	51.641
13	α -logipinene	51.622
14	Tricosane	93.045
15	Eicosane	109.599
16	Docosane	110.477

Figure 1. TIC of cumin essential oil.

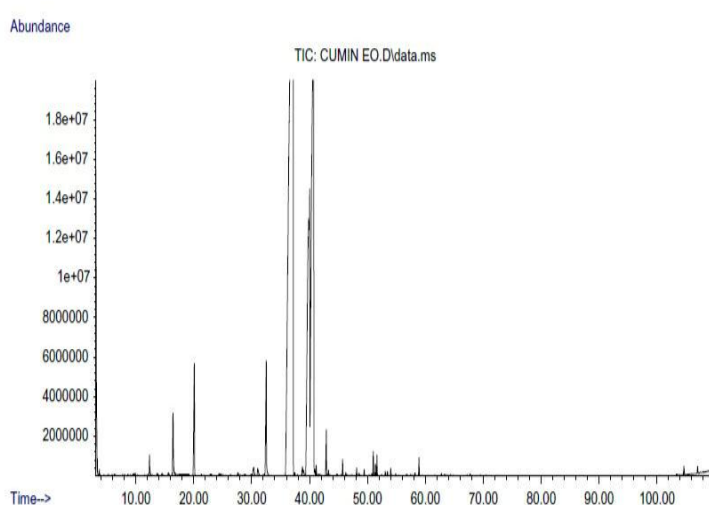


Figure (IV.4) : chromatogramme de l'huile essentielle de cumin (pure) (C)

Les résultats d'analyse d'huiles essentielles sont présentés sous forme de chromatogrammes. Le chromatogramme de chaque région(A) et (C) comporte plusieurs pics : 06 pics pour le (A) (Figure 4), 16 pics pour le (C) (figure 28) . Les pics du chromatogramme de chaque huile essentielle délimitent une surface proportionnelle à la quantité de composants chimiques présente dans l'huile. La détermination des surfaces enregistrées par l'appareil donne le temps de rétention de chaque composant correspondant au nom du produit chimique de l'huile analysée.

IV.6.Activité antioxydant

Tableau (IV.8) : Test de DPPH

Espèce	DPPH
A	/
B	127,456mg/ml
C	0.28 μ mol/g

Introduisez l'huile de cumin obtenue en (C) une meilleure activité antioxydante que celle obtenue en (B) ,les deux tests ont donné des résultats différents (tableau IV.8).le test (C) a une activité antioxydante inférieure de 28%, ce qui peut être attribué à la faible teneur en huile.

A partir des résultats obtenus le pouvoir antioxydant des huiles essentielles par le test de DPPH ont été attribuées un effet antioxydant meilleur des huiles essentielles extraites pour (C) que celle obtenues pour (B).

IV 7. Activité antibactérienne

Les résultats d'activité antibactérienne sont représentés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau (IV.10) : Les mesures de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle (A) de cumin sur différents types de souches

Souches bactériennes	Zone d'inhibition en mm
Staphylococcus aureus	19
Staphylococcus epidermidis	17
Pseudomonas aeruginosa	17
Escherichia coli	24
Enterococcus	17
Klebsiella pneumoniae	40
Saccharomyces cerevisiae	54
Candida albicans	51

Tableau (IV.11) : Les mesures de l'activité inhibitrice de l'huile essentielle(B) de cumin sur différents types de souches .

Souches bactériennes	Zone d'inhibition en mm
Escherichia coli BLSE positive	17.8
Escherichia coli ATCC 25922	19.4
KpC ⁺	22.5
Pseudomonas aeruginosa VIM2	18.7
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	22.3

L'HE de (A) et celle de (B) se sont avérés très actifs contre toutes les souches testées.

Pour les souches *saccharomyces cerevisiae* et *candida albicans* d'HE (A) , on remarque la présence d'une zone d'inhibition qui est très importante dépassant les (50mm) de diamètre donc elle manifeste une sensibilité très élevée.

E. coli de (A) avec une zone d'inhibition de (24mm) , *E. coli* de (B) avec un zone d'inhibition (17.8mm) (19.4mm) . Donc on peut dire que l'HE (A) a montré un effet antibactérien prononcé vis-à-vis à l'HE (B).

D'après les zones d'inhibition générées par les HEs étudiées (A et B), l'HE (A) a présenté la meilleure activité sur l'ensemble des souches testées. Il ressort de notre étude que les souches cliniques : *Escherichia coli* BLSE positive, KpC⁺ et *Pseudomonas aeruginosa* VIM2, qui sont des bactéries multi résistantes (BMR) par rapport aux antibiotiques.

Conclusion générale

Conclusion générale

Conclusion

Au terme de notre étude qui a porté sur l'extraction et caractérisation des huiles essentielles obtenues par des graines de cumin des régions (BOUMERDES (A), OUM EL BOUAGHI (B) et INDIA (C)) on a proposé une étude comparative sur la composition chimique de ces huiles essentielles (A), (B) et (C). Différentes analyses sont appliquées à ses grains : extraction des huiles essentielles, évaluation de leur effet antioxydant, caractérisation organoleptiques, propriétés physico-chimiques, et en fin la détermination de leur pouvoir antibactérien sur des souches pathogènes et multi résistantes : ils s'agit de *Escherichia coli* (BLSE positive, ATCC25922), *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Saccharomyces cerevisiae* et *Candida albicans*.

Nous pouvons dire que le rendement dépend de la durée d'extraction par hydrodistillation révèle des valeurs de 2.25% et 3.66% pour l'HE (A) et (B) respectivement, qui montre que l'HE (B) récupère une quantité importante.

Le tracé de la cinétique montre que les courbes ont la même allure, ce qui laisse supposer que nous obtenons une composition pratiquement constante dans le temps.

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, odeur et couleur) obtenues par HE (A) sont différentes qui sont obtenues par HE (B) et (C).

Ces huiles essentielles sont riches en composés chimiques importants pour la santé les principaux sont : le cumin aldéhyde et le cuminol.

L'HE (A) ces composés sont accompagnés de produits en faible quantité tels que : α -pinène, β -pinène, myrcène, γ -terpinène, etc.

Cette étude a permis aussi d'évaluer les propriétés physico-chimiques de ces huiles essentielles (A, B et C). Ces huiles essentielles présentent une densité relative de 0.953 et 0.9104, une réfraction de 1.5014, 1.499 et 1.52. D'indice d'acide de 5.61 et 1.683 respectivement.

D'après ces résultats, cette activité antimicrobienne intéressante, peut aussi nous ouvrir les portes vers l'évaluation *in vivo* et l'exploitation de ces huiles pour une future utilisation dans l'industrie agro-alimentaire en substituant les additifs chimiques de conservation par ces additifs naturels et étudier d'autres propriétés biologiques de ces graines, à savoir les propriétés anti-inflammatoires, antivirales et autres.

Bibliographie

référence

- [1] C. SAIDA and D. FATIMA, 2018.
- [2] X. Au, Progrès en dermato-allergologie: Lille 2004 2004, 10, 59.
- [3] J. Verghese, Perfumer & flavorist 1991, 16, 61-64.
- [4] P. Quézel and S. Santa, 1962.
- [5] M. De, A. De and R. Mukhopadhvay, 2003.
- [6] S. Abahri in Caractéristiques physico chimiques de trois huiles essentielles extraites par hydro distillation de trois plantes aromatiques (cumin, cannelle de Chine et la coriandre), Vol. Université Mouloud Mammeri, 2018.
- [7] E. Teuscher, R. Anton and A. Lobstein, Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, Tec & Doc, 2005, p.
- [8] M. Cahuzac-Picaud, Phytothérapie 2012, 10, 109-116.
- [9] S. Athamena and S. Laroui, 2009.
- [10] R. Yaacoube and I. Tlidjane, 2018.
- [11] S. Aouadhi, Mém. Mas. en toxicologie. Faculté de médecine de Tunisie 2010.
- [12] N. TAHRI, A. EL BASTI, L. ZIDANE, A. ROCHDI and A. DOUIRA, Journal of Forestry Faculty of Kastamonu University 2012, 12.
- [13] J. F. R. Huertas, C. M. A. García and M. D. M. García, Méditerranéenne à Chefchaouen 22.
- [14] A. Kahouadji, O. Guellil and A. Belkaid.
- [15] M.-A. Tareau in Les pharmacopées métissées de Guyane: ethnobotanique d'une phytothérapie en mouvement, Vol. Université de la Guyane, 2019.
- [16] A. M. Buronzo.
- [17] C. Silvant, L'Aromathérapie: La nature au service de l'humanité, Editions Publibook, 2015, p.
- [18] N. Nalini, V. Manju and V. P. Menon, Clinica Chimica Acta 2004, 342, 203-210.
- [19] A. KAHOUADJI, O. GUELLIL and A. BELKAID in Effet thérapeutique ex vivo de l'huile essentielle du cumin (Cuminum Cyminum) sur l'activité bactérienne du Streptocoques impliqués dans les lésions carieuses chez les enfants diabétique de type 1, Vol.
- [20] D. Kalemba and A. Kunicka, Current medicinal chemistry 2003, 10, 813-829.
- [21] S. Burt, International journal of food microbiology 2004, 94, 223-253.

référence

- [22] A. C. Kimbaris, N. G. Siatis, D. J. Daferera, P. A. Tarantilis, C. S. Pappas and M. G. Polissiou, *Ultrasonics sonochemistry* 2006, 13, 54-60.
- [23] S. Jouault in *La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité*, Vol. Université de Lorraine, 2012.
- [24] P. R. Haddad and P. E. Jackson, *Ion chromatography*, Elsevier, 1990, p.
- [25] N. Tabanca, B. Demirci, T. Ozek, N. Kirimer, K. H. C. Baser, E. Bedir, I. A. Khan and D. E. Wedge, *Journal of Chromatography A* 2006, 1117, 194-205.
- [26] B. Buchanan, W. Gruissem and R. Jones, Inc. Waldorf, MD 2000.
- [27] D. Toure in *etudes chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques medicinales de côte d'ivoire*, Vol. 2015.
- [28] R. Ayad, 2008.
- [29] M. B. Khedidja and A. H. Fetta.
- [30] A. Bouyahya, Y. Bakri, A. Et-Touys, A. Talbaoui, A. Khouchlaa, S. Charfi, J. Abrini and N. Dakka, *Phytothérapie* 2017, 1-11.
- [31] L. Lagunez Rivera in *Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe*, Vol. 2006.
- [32] M. Radja, *Composition chimique et l'activité antioxydant de l'huile volatile de grains du Cuminumcyminum isolé par vapodistillation assisté par micro-ondes*, 2013, p.
- [33] D. Mantle, J. G. Anderton, G. Falkous, M. Barnes, P. Jones and E. K. Perry, *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 1998, 121, 385-391.
- [34] A. E. Edris, *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives* 2007, 21, 308-323.
- [35] J. Bruneton in *Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales*, Vol. 1993.
- [36] L. MAIDI in *Mise en évidence des activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles et des extraits de Ocimum basilicum L.(Lamiaceae) de la région d'El Assafia (W. de Laghouat) Algérie*, Vol. 2014, جامعة الجلفة.
- [37] M.-C. Pibiri in *Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles*, Vol. EPFL, 2006.
- [38] N. S. Iacobellis, P. Lo Cantore, F. Capasso and F. Senatore, *Journal of agricultural and food chemistry* 2005, 53, 57-61.

référence

[39] E. Guinoiseau in Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action, Vol. 2010.

[40] L. Zenasni, 2014.

[41] C. Desmares, A. Laurent and C. Delerme, Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), France 2008.