



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'Enseignement Supérieure et de la
Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji – Laghouat

Faculté de Technologies

Département de Génie Des Procédés

Mémoire De Master

Présenté par : MEFTAH Fatima Zohra

BENZIANE Sabrina El Hadja

Domaine : Sciences et Techniques

Filière : Génie Des Procédés

Option :Génie Pharmaceutique

Thème :

**Analyse chromatographique GC-MS et test des propriétés
antioxydantes d'huile essentielle de *rhizomes de curcuma longa L.***

Jury de soutenance :

<u>Nom et Prénom</u>	<u>Grade</u>	<u>Qualité</u>
GUENANE Hadjira	MCA	Présidente
MECHRAOUI Omar	MCA	Examineur
MAHDJOUBI Hadj Aissa	MCB	Rapporteur

Année Académique : 2023-2024



Dédicace

Au nom de Dieu, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux, et que la prière et la paix soient sur Son Noble Messager

Je remercie Dieu qui m'a permis d'accomplir ce travail et m'a amené à cet endroit

Je consacre le fruit de mes efforts à le soutien qui m'a soutenu, mon cher père bin Zayan Abdul Qadir

et à la source de mon affection, ma chère mère b k, que Dieu la protège et prenne soin d'elle

et à mes frères Abdel Hafeez et Abdel Razzaq

et à mes sœurs Fatima Ruqayya et Maryam

et aux petites filles Maria Ansaf et Rufaida

et à tous les amis et proches

Je n'oublierai pas non plus mon honorable professeur Mahdjoubi Haj Aissa, qui nous a soutenu dans ce travail



Sabrine



Dédicace

À mon père, dans l'ombre de ton absence chaque succès est teinté de tristesse, car tu n'es pas là pour le partager. Mais aujourd'hui, plus que jamais, je sens ta présence à mes côtés. Ce projet, qui marque la fin de mes études, est un hommage à toi, mon guide silencieux, dont l'amour et la force continuent de m'inspirer chaque jour. Tu m'as appris à affronter le monde avec courage et à ne jamais renoncer des leçons que j'applique avec chaque battement de cœur. Je dédie ce triomphe à ta mémoire éternelle, avec l'espoir que d'où tu es, tu puisses ressentir toute la fierté et l'amour que je garde pour toi

Et à ma mère mes frères et mes sœurs, votre soutien indéfectible, votre amour et votre encouragement au cours de ces dernières quatre années ont été les piliers de ma réussite. Sans votre aide précieuse, ce chemin aurait été bien difficile. Ce triomphe est aussi le vôtre. Merci d'avoir été à mes côtés de m'avoir soutenu dans les moments difficiles et de m'avoir aidé à préserver jusqu'à ce que ce rêve devienne réalité.

Avec toute ma gratitude et mon amour infini.



Fatima Zohra

Remerciements

Le grand merci c'est à Dieu le très haut qui nous a aidé de réaliser ce travail.

*Nous remercierons particulièrement Monsieur
MAHDJOUBI Hadj Aissa pour avoir accepté de nous encadrer et pour
Nous 'avoir
Guidé tout au long de ce travail*

*Avec beaucoup de patience, ainsi que pour ses conseils judicieux et ses encouragements
Nous voudrions exprimer nos vives gratitudes et nos sincères remerciements à:
Les membres du jury Monsieur MECHRAOUI Omar et M^{elle} GUENANE Hadjira qui ont
pris la peine d'examiner ce modeste
Travail.*

*Merci à tous les employés de laboratoires de génie des procédés qui nous ont accueillis avec
beaucoup de gentillesse et une bonne humeur.*

*Enfin nous voudrions exprimer notre gratitude à tous les profs de département génie des
procédés en particulier le chef département
Monsieur BEN ALIA Mokhtar.*

Liste des abréviations

HE	Huile essentielle
CG	Chromatographie
CPG	Chromatographie en Phase Gazeuse
SM	Spectrométrie de Masse
DPPH	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
UV- visible	Ultraviolet visible

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les différentes appellations de Curcuma longa L	5
Tableau 2 : La classification botanique du Curcuma longa.	5
Tableau 3 : Caractéristiques physiques d'huile essentielle étudiée	24
Tableau 4 : Comparaison de la composition des huiles essentielles de différents études	25

Figure 01 : Rhizome et poudre de curcuma.	03
Figure 02 : La répartition géographique du Curcuma	06
Figure 03 : Schémas et photographie de la plante <i>Curcuma longa</i> L.	06
Figure 04 : poudre de curcuma	14
Figure 05 : Montage d'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle de curcuma	15
Figure 06 : Schéma de l'appareil Clevenger	15
Figure 07 : Le réfractomètre.	17
Figure 08 : Le polarimètre.	18
Figure 09 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant	20
Figure 10 : L'appareil de spectroscopie UV-Visible	22
Figure 11 : Les composés terpéniques majoritaires dans les huiles essentielles de <i>curcuma longa</i> L.	26
Figure 12 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'acide ascorbique	27
Figure 13 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'huile essentielle	27

Introduction générale	01
-----------------------	----

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la plante étudiée (<i>Curcuma longa</i> L.)	04
I.1.1. Historique	04
I.1.2. Étymologie et nomes vernaculaire	05
I.1.3. Nomenclature et synonymes	06
I.1.4. Classification botanique	06
I.1.5. Habitat et représentation géographique	07
I.1.6. Description botanique	07
I.1.7. Compositions chimiques	09
I.2. Huile essentielle de curcuma	10
I.2.1. Composition chimique	10
I.2.2. Caractéristiques organoleptiques et physiques	10
I.2.3. Propriétés phytothérapeutiques	11
I.2.4. Précautions d'emploi et contre-indications de l'huile essentielle de curcuma	12
I.3. Analyse chromatographique et spectroscopie de masse	12
I.3.1. Le couplage de CPG avec la spectrométrie de masse (GC-MS)	12
I.3.2. Le spectromètre de masse	13

Chapitre II : Matériels et Méthodes

II.1. Introduction	15
II.2. Matériel végétale	15
II.3. Extraction et caractérisation d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa	15
II.3.1. Détermination de rendement	17
II.3.2. Constantes physiques	17

II.3.2. 1. Mesure de la densité relative	17
II.3.2. 2. Mesure de l'indice de réfraction	18
II.3.2. 3. Mesure du pouvoir rotatoire	18
II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG / SM	19
I.4.1. Identification et semi-quantification	20
III.5. Détermination de l'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH•	21
III.5.1. Mesure d'absorbance par spectroscopie UV-visible	22
Chapitre III : Résultats et discussion	
III.1. Extraction et Caractérisation d'huile essentielle	25
III.1.1. Détermination de rendement	25
III.1.2. Constantes physiques	25
III.2. Analyse par CPG / SM	26
III.3. Détermination de l'activité antioxydante : piégeage du radical libre DPPH•	27
Conclusion générale	30
Références bibliographiques	

Introduction générale

Le curcuma, *Curcuma longa* L., est une plante vivace appartenant à la même famille que le gingembre, les Zingibéracées. Le rhizome est la partie utilisée de la plante, réduit en poudre il est utilisé en tant qu'épice alimentaire. La poudre a une saveur poivrée et amère. La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes. Parmi ceux-ci, la curcumine est la molécule la plus abondante et la plus étudiée.

Elle est utilisée depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne (médecine ayurvédique) et chinoise, pour traiter l'asthme, les allergies, les désordres hépatiques comme la jaunisse, l'anorexie, les rhumatismes, le rhume et la sinusite.

Ces dernières années, avec l'augmentation entre autres des maladies inflammatoires chroniques, des cancers et de la maladie d'Alzheimer, le monde occidental s'est intéressé de plus en plus à cette épice. En effet, il a été constaté que le cancer du côlon est moins fréquent dans les pays où l'on consomme du curry quotidiennement.

Plusieurs études utilisant les techniques modernes ont authentifié le curcuma utilisé comme anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux, antidiabétiques, antioxydant, hypolipédimiant, anti-venin, anti hépato-toxique, néphroprotecteur, anticoagulant et autres (Seif el Islem Fouad, 2013).

Avec plus de 4500 publications sur PubMed au cours de ces dix dernières années, la recherche sur le curcuma éveille sans cesse l'intérêt de nombreux scientifiques. Face à cet intéressement de la communauté scientifique internationale vis-à-vis le curcuma et ces vertus thérapeutiques et la méconnaissance plus la pauvre utilisation de ce produit dans notre pays, nous avons trouvé nécessaire d'entreprendre une étude d'approche expérimentale permettant de vérifier quelques une de ces vertus à fin d'ouvrir une brèche sur d'autres études est de faire connaître cet épice et son principe actif chez différents utilisateurs, en allant des différents exploitants jusqu'au simple consommateur, en généralisant son utilisation

C'est dans cette optique que s'articule la présente étude, dont les principaux objectifs visent à tester l'huile essentielle et analyse chromatographique GC-MS . Pour ce fait nous avons scindé notre mémoire en trois chapitres :

- Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique sur la plante étudiée (rhizomes de *curcuma longa* L.).

- Le deuxième chapitre représente la méthodologie expérimentale : extraction et caractérisation d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa et l'Analyse chromatographique et spectroscopie de masse.
- Le troisième chapitre présente les différents résultats expérimentaux obtenus ainsi que leur discussion.
- Enfin, notre mémoire se termine par une conclusion générale relatant les principaux résultats de cette étude

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Présentation de la plante étudiée (*Curcuma longa* L.)

La *Curcuma longa* L. est une plante qui appartient à la même famille que le gingembre, les *Zingibéracées*. Il est distribué dans les régions tropicales et subtropicales du monde et il est largement cultivé dans les pays asiatiques, à savoir : Malaisie, Indonésie, Inde et Taiwan. La plante est également cultivée en certains pays africains, précisément en République Démocratique du Congo. Cette plante est cultivée pour ses rhizomes. Les rhizomes séchés et réduits en poudre, peuvent être utilisés comme une épice alimentaire pour rehausser la saveur des aliments. Ils sont utilisés depuis au moins 4000 ans dans la tradition du système médical populaire. Cette plante a également une longue histoire dans la médecine chinoise. (Mebarkia, 2022).



Figure 01 : Rhizome et poudre de curcuma

I.1.1. Historique

Le *Curcuma longa* L, est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps, qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud -Est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années. (Penso et al., 1986)

Il ne se trouve pas dans un état véritablement sauvage, mais il semble s'être naturalisé dans certaines régions. C'est un triploïde stérile et on pense qu'il est apparu par sélection continue et

multiplication végétative d'un hybride entre le curcuma sauvage diploïde (*Curcuma aromatica* Salisb., originaire de l'Inde, du Sri Lanka et de l'est de l'Himalaya) et un autre *Curcuma* tétraploïde apparenté.

Depuis 4000 ans, le *Curcuma longa* L est important dans la culture védique, on retrouve sa trace dans des écrits sanskrits ; et dans la médecine ayurvédique (médecine holistique qui étudie empiriquement les effets de l'alimentation sur la santé). (Perry et al., 2008)

En Europe, les moines font mention de la plante, introduite par les navigateurs, dans leurs écrits dès le 6^{ème} siècle. (Delaveau., 1987)

- Connu en Chine depuis le 7^{ème} siècle.
- Connu en Afrique de l'Est depuis le 8^{ème} siècle.
- Connu en Afrique de l'Ouest depuis le 13^{ème} siècle.
- Ramené en Europe en 1298 par Marco Polo qui le découvre en Chine et par les arabes au 13^{ème} siècle.

Quand à son utilisation médicinale ; Nicolas Lémer, médecin et chimiste français, estime cette terre mérita comme « apéritive, capable de lever les obstructions du foie, de la rate, pour la jaunisse, pour la néphrétique » dans le dictionnaire ou traité universel des drogues simples de 1716. (Delaveau., 1987).

I.1.2. Étymologie et noms vernaculaires

Le nom scientifique *Curcuma longa* fait allusion à sa forme allongée. Le nom curcuma a été inventé par Linné dans son « espèce plantarum » en 1753, probablement le mot dérive du mot arabe « kurkum » qui signifie couleur jaune. Cela est dû à la couleur jaune prédominante de rhizome souterrain une partie importante de la plante qui a été utilisé traditionnellement depuis des temps immémoriaux pour l'humanité (Salvi et al. 2000; Shirgurkar et al. 2001). Là c'est sous cette dernière forme qu'il est passé dans les langues européennes, le « c » se transformant parfois en « k » dans les langues germaniques, à l'exception de l'anglais qui le désigne sous le nom de turmeric. C'est d'ailleurs la langue anglaise qui a conservé l'origine de son appellation en latin médiéval, terra merita (terre mérite) par le mot "turmeric" (Delaveau, 1987). La ressemblance de sa poudre avec l'ancre minérale précieuse a donné le terme turmerique. De même, son nom chinois jianghuang, signifie gingembre jaune, une allusion au fait qu'il est de la même famille botanique que le gingembre et à la remarquable couleur de son rhizome. Nom

scientifique: *Curcuma longa*, *Curcuma aromatica*. Noms communs: Safran des Indes, turmerie sauvage (Jesus, 2017).

I.1.3. Nomenclature et synonymes :

La *Curcuma longa* L est connu dans le monde par plusieurs appellations comme le montre le tableau suivant.

Tableau 1 : Les différentes appellations de *Curcuma longa* L (Khedis et Aid, 2020 ; Tefiani ,2015 ; Hombourger, 2010).

Langue	Appellations
Arabe	الكرم
Anglais	Turmeric
Français	Curcuma, safaran des indes, souchet de babylone, terre-mérite.
Berbère	Zarounbad
Inde	haldi

I.1.4. Classification botanique

Selon la littérature botanique le *Curcuma longa* peut être classé comme suit :

Tableau 2 : La classification botanique du *Curcuma longa*. (Chibout, et Boussaide,2023).

Règne	Planta
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Liliopsida
Ordre	Zingibérales.
Famille	Zingibéracée.
Genre	<i>Curcuma</i> .
Espèce	<i>Curcuma longa</i> L.

I.1.5. Habitat et représentation géographique

Originaire du Sud- Est asiatique, le Curcuma cultivé essentiellement dans les régions tropicales jusqu'à 2000 m d'altitude, en Inde, en Chine, aux Antilles (Réunion – Jamaïque), en Malaisie, au Brésil, a Ceylan mais également au Jappant, aux Philippines, a Java et Haïti. (yfrah.ghali.2020)

La répartition géographique du Curcuma longa est illustrée dans cette figure.

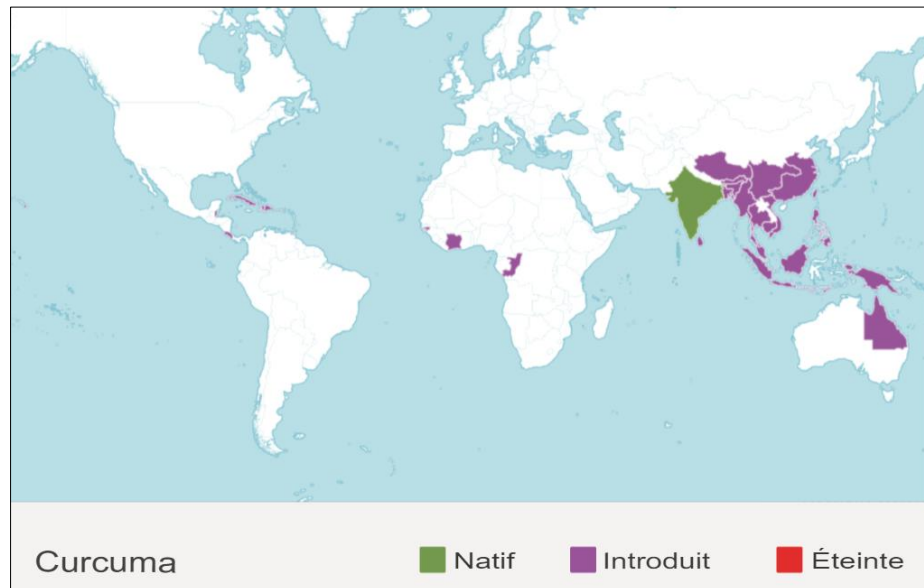


Figure 02 : La répartition géographique du Curcuma

I.1.6. Description botanique

Curcuma longa L. est un genre végétal de la famille des Zingibéracée, qui fait partie du règne végétal, angiosperme, monocotylédone, de la division Magnoliophyta, de l'ordre des Liliopsidae, de la famille des Zingibéracée. Il est nécessaire de collecter le rhizome 7 à 8 mois après la plantation, lorsque celui-ci commence à sécher. (Chibout, et Boussaide,2023)



Figure 03 : Schémas et photographie de la plante *Curcuma longa* L.

a- Les parties aériennes

C'est une plante herbacée de 0,6 mètre à 1 mètre de hauteur, vivace par des rhizomes, tuberculeux cylindriques présentant de nombreuses racines adventives.

❖ Les feuilles

Le curcuma longa possède de grandes feuilles pointues engainantes à limbe elliptique de couleur verte pouvant mesurer jusqu'à 45 centimètres de long et 18 centimètres de large. Elles sont munies d'une nervure médiane d'où partent de nombreuses nervures secondaires parallèles entre elles (penninerves). Les feuilles sont alternes et sortent directement du rhizome.

❖ Les fleurs

A l'intérieur de ces longues feuilles engainantes, s'élève une tige surmontée d'un plumet de fleurs. Cette inflorescence regroupée en épis mesure en moyenne 15 centimètres de long et 5 centimètres de large. Elle porte des fleurs jaune pâle entourées de larges bractées fertiles vertes lancéolées longues de 4 à 5 centimètres.

- Le calice est tubuleux à trois dents.
- La corolle est représentée par un tube deux à trois fois plus long, tripartite, jaune pâle à pétale postérieur très développé.
- L'androcée est formé de deux verticilles :

-Le premier comprend des staminodes pétaloïdes soudée entre eux,

-Le deuxième comprend trois étamines dont deux stériles. Il ne persiste donc qu'une seule étamine fertile, pétaloïde, trilobée.

- L'anthère est biloculaire.
- L'ovaire est infère et triloculaire.

❖ Les fruits

Les fruits sont représentés par des capsules à déhiscence loculicide contenant de nombreuses petites graines arillées et albuminées.

b- Les parties souterraines : le rhizome

Ces rhizomes, de couleur jaune vif à l'intérieur attribuée à la présence de curcumine, fournissent la drogue à l'origine des propriétés thérapeutiques.

Les tubercules sont beaucoup moins épais, en fragments plus ou moins cylindriques ou fusiformes amincis aux deux bouts. Mais ils peuvent parfois être incurvés, atténués ou arrondis aux deux extrémités.

Leur taille, sensiblement égale à celle du petit doigt est comprise entre 3 et 7 centimètres de diamètre.

Peuvent subsister quelques ramifications courtes ou plus fréquemment de larges cicatrices ou des saillies représentant les bourgeons

- Le calice est tubuleux à trois dents.
- La corolle est représentée par un tube deux à trois fois plus long, tripartite, jaune pale à pétale postérieur très développé.
- L'androcée est formé de deux verticilles.

-Le premier comprend des staminodes pétaloïdes soudée entre eux,

-Le deuxième comprend trois étamines dont deux stériles. Il ne persiste donc qu'une seule étamine fertile, pétaloïde, trilobée.

- L'anthère est biloculaire.
- L'ovaire est infère et triloculaire.

❖ La surface

Les rhizomes sont recouverts d'une écorce gris-jaunâtre ou légèrement verdâtre souvent poussiéreuse, finement chagrinée, marquée d'impressions circulaires transversales ou de sillons striés parfois obliques, irréguliers pour le curcuma rond et réguliers pour le curcuma long.

❖ La cassure

La cassure est nette, non fibreuse, résinoïde, un peu granuleuse, plus ou moins brillante, fortement colorée du jaune chrome au jaune brun foncé. Elle est également marquée de ponctuations très apparentes dans l'écorce et dans le bois. (Chibout, et Boussaïde,2023).

I.1.7. Composition chimique

50 à 60 % des composés phénoliques sont la curcumine, la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine. On trouve également dans le curcuma 64,9% de glucides, 7,8% de protéines, 9,9% de lipides, 11,4% d'eau, des minéraux, des vitamines C, B1, B2, B3, B9.

I.2. Huile essentielle de curcuma

La norme AFNOR NF T-75-006 définit l'huile essentielle comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétal. Soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est alors séparée de la phase aqueuse par des procédés physique. Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organe :

Fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, fruits, ou grain. La composition des huiles essentielles peut alors varier d'un organe à l'autre. La quantité d'huile essentielle contenue dans les plantes est toujours faible, parfois très faible. Ceci explique le coût élevé des huiles essentielles, il est lié à la rareté et non au procédé d'extraction qui reste le même pour la plus parts des plantes. Il faut parfois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. (Bakchiche,2015).

I.2.1. Composition chimique

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et parfumées des plantes (Raina et al, 2005) ; généralement de composition complexe (Bencheikh, 2017) ; Elles sont obtenues à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation (Hay, 2015) ; Les huiles contiennent des substances volatiles qui sont des terpènes et leur dérivé oxygéné généralement appelé camphre (Raina et al, 2005) ; Elles peuvent être stockées dans toutes les parties de la plante, comme les rhizomes pour le curcuma et le gingembre (Randrianarivelo, 2010). L'arôme du curcuma est apporté par l'huile essentielle volatile et ses

constituants tels que les composés phénoliques. Les constituants chimiques de l'huile volatile de curcuma longa ont été identifiés par chromatographie en phase gazeuse et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (Raina et al, 2005) ; L'huile essentielle de curcuma se compose également en petites quantités des monoterpènes oxygénés, associés à des petites quantités des sesquiterpènes et des monoterpènes hydrocarbonés (Hombourger, 2010).

I.2.2. Caractéristiques organoleptiques et physiques

Une bonne huile essentielle de Curcuma doit avoir les caractéristiques physiques suivantes :

- Densité à 20°C : 0,925 à 0,945
- Indice de réfraction à 20°C : 1,505 à 1,515
- Pouvoir rotatoire à 20°C : -30° à +5°
- Point éclair : $\geq 60^{\circ}\text{C}$ (Chibout, et Boussaide, 2023).

L'huile est jaune pâle à jaune foncé et dégage un parfum frais, épicé et puissamment boisé.

I.2.3. Propriétés phytothérapeutiques

L'huile essentielle de curcuma est reconnue pour ces propriétés :

- Facilite la digestion et stimule la sécrétion de bile.
- Participe à réduire la formation des gaz intestinaux
- Antiparasitaire et antifongique
- Vermifuge, elle est active contre les vers intestinaux (ascaris, oxyures...).
- Antibactérienne, des études montrent notamment une action sur le Staphylocoque doré et sur *Listeria monocytogenes*.

L'huile de curcuma contient de la curcumine, qui est un anti-inflammatoire important qui provoque l'éclat et l'inflammation de la peau.

- Protège contre la peau et les infections cutanées.
- Protège des coups de soleil.
- Protège contre les infections des gencives et des dents.
- Appliquez de l'huile de curcuma sur les articulations pour soulager la douleur.
- Renforce et aide à prévenir l'ostéoporose.

- Il contient des antioxydants, qui aident à éviter la formation de radicaux libres qui causent le cancer.
- Protège contre le cancer en stimulant l'immunité.
- Réduit les gaz dans l'estomac.
- Protège le système digestif des irritations et des troubles.
- L'huile de curcuma est utilisée pour le soin des cheveux, elle traite les pointes fourchues et augmente la propreté et la santé du cuir chevelu.

-Aide à prolonger les cheveux. (Chibout, et Boussaide,2023).

I.2.4. Précautions d'emploi et contre-indications de l'huile essentielle de curcuma

L'usage du curcuma peut s'avérer toxique et donner lieu à des effets indésirables tels que des réactions cutanées, des maux de tête ou encore des troubles digestifs, L'huile essentielle de curcuma ne doit pas être appliquée pure sur la peau. Il convient de la diluer. Utilisée à forte dose, elle peut être irritante et allergisante. Toujours effectuer un test cutané au préalable. (Chibout, et Boussaide,2023).

I.3. Analyse chromatographique et spectroscopie de masse

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique très répandue, dont les premières applications qui remontent au début des années 40 ont concerné le contrôle des fractions légères des raffineries de pétrole. Son développement qui n'a cessé depuis, est dû à son extrême sensibilité, à sa polyvalence, à la rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent encore plus son intérêt. La séparation sur la colonne se faisant sur les composés qui doivent être à l'état gazeux, l'analyse des liquides ou solides impose de pouvoir les transformer à l'état de vapeur par chauffage. C'est sans doute la principale contrainte à laquelle il faut penser avant de choisir cette technique, puisqu'elle limite son emploi à l'étude des composés moléculaires thermostables et suffisamment volatiles. Les phases stationnaires commerciales sont assimilées généralement à des liquides, rarement à des solides. Les applications sont très nombreuses dans tous les domaines et les développements de la chromatographie gazeuse à grande vitesse ou multidimensionnelle rendent cette technique toujours plus attractive.

Le principe de la séparation par CPG consiste à partager l'échantillon à analyser entre deux phases ; L'une de ces phases est un liquide stationnaire uniformément réparti sous forme d'une

pellicule mince sur un solide inerte de grande surface spécifique, tandis que l'autre phase est un gaz mobile qui s'écoule à travers l'ensemble stationnaire.

I.3.1. Le couplage de CPG avec la spectrométrie de masse (GC-MS)

La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse sont des techniques qui ont connu des développements historiques très différents.

C'est en 1941, que Martin et Synge, mentionnèrent pour la première fois la possibilité d'utiliser un gaz comme phase mobile dans un système chromatographique. Mais il fallut attendre 1952 pour que soient présentés les premiers résultats de séparation par chromatographie en phase gazeuse d'acides gras libres, résultats de James et Martin. Cette technique analytique connut un développement fulgurant mais il devint évident très vite qu'il était difficile, sinon impossible, d'identifier les composés d'un mélange complexe par CPG. Il fallait un détecteur dont la réponse serait différente et spécifique pour chacun des composés séparés. Un tel détecteur existait bien avant que la CPG soit décrite : c'était le spectromètre de masse dont les origines remontent à 1918 (travaux de ASTON et DEMPSTER). La fragmentation des molécules lors d'un bombardement sous vide par des électrons d'énergie contrôlée puis la séparation des ions ainsi formés selon leur rapport masse / charge dans un tube analyseur, constituent le principe de base de la spectrométrie de masse. Il devenait donc possible d'identifier un à un les composés séparés par CPG grâce au couplage avec le spectromètre de masse.

Le premier couplage CPG /SM fut réalisé en 1957 par HOLMES en suède ; depuis des progrès spectaculaires ont été réalisés mais remarquables en ce sens qu'ils vont vers une simplification de l'interface. (f.dridi.2005)

I.3.2. Le spectromètre de masse

Le spectromètre de masse est un appareil qui sert à établir les masses moléculaires et la structure des substances. L'identification du composé se fait en analysant les ions formés à partir de la substance. (f.dridi.2005)

A l'intérieur du spectromètre a lieu la volatilisation du produit, la formation des ions en phase gazeuse ainsi que la séparation des ions selon le rapport masse M sur la charge Z . (f.dridi.2005)

Chapitre II

Matériels et Méthodes

II.1. Introduction

Ce travail a été effectué dans les laboratoires du département de Génie des procédés à l'université Ammar Telidji Laghouat dont le but d'extraire l'huile essentielle de rhizomes de curcuma , de déterminer ses propriétés physique puis d'étudier sa composition en utilisant l'analyse chromatographique couplé à la spectroscopie de masse.

II.2. Matériel végétale

La curcuma longa à été choisie essentiellement sur la base de son intérêt et sa fréquence d'emploi grâce à l'enquête ethnobotanique effectuée au cours de cette étude auprès des radiothérapeutes, des herboristes et des personnes utilisant ou vendant les plantes médicinales. La plante Curcuma qui fait l'objet de notre étude, a été achetée chez le moulin royal à Laghouat sous forme des rhizomes sèches.



Figure 04 : poudre de curcuma

II.3. Extraction et caractérisation d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée en utilisant la méthode d'hydrodistillation par le moyen d'un appareil de Clevenger , on a pris 200 g de matière végétale avec 1,5 L d'eau dans un ballon de 2 L. Une fois que le montage a été installé et fermé, la mise en marche du chauffe-ballon est réalisée en ajustant le chauffage de manière optimale afin de garantir une extraction stable et maîtrisée.

Le condenseur reçoit la vapeur chargée d'huile essentielle. On estime à 2 heures la durée totale de l'extraction. L'huile essentielle diffère de l'hydrolat (eau aromatique) en raison de sa densité et de sa couleur différente. Elle est dissoute de lui par décantation. Par la suite, elle est soumise

à un processus de séchage avec du sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4), puis récupérée et stockée dans des vials, fermés hermétiquement et conservés dans un endroit frais et sombre.



Figure 05 : Montage d'extraction par hydrodistillation d'huile essentielle de curcuma

La figure suivante présente mieux l'appareille Clevenger

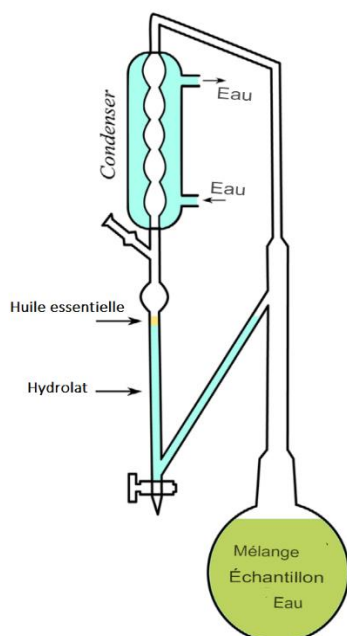


Figure 06 : Schéma de l'appareil Clevenger

II.3.1. Détermination de rendement

La quantité d'huile essentielle produite est calculée en fonction du rapport entre les masses de l'huile essentielle et de la matière végétale séchée. On le représente en pourcentage (%).

$$R = \frac{MHE}{MVS} \times 100$$

Où :

R : Rendement en huile essentielle (%) ;

MHE : Masse de l'huile essentielle (g) ;

MVS : Masse de la matière végétale sèche (g).

II.3.2. Constantes physiques

La qualité des matières premières utilisées et la formulation du produit fini sont étroitement liées à la sécurité d'utilisation des produits cosmétiques contenant des HE. Afin d'assurer leur qualité, il sera nécessaire d'obtenir les HE à partir de matières premières spécifiquement identifiées, de les contrôler selon des procédés spécifiques, de présenter des caractéristiques physico-chimiques précises et de les conserver de manière satisfaisante.

On peut définir l'HE en étudiant ses caractéristiques physiques telles que sa densité, son indice de réfraction et son pouvoir rotatoire.

II.3.2.1. Mesure de la densité relative

La densité relative à 20°C (d_{20}^{20}) correspond au rapport entre la masse d'un volume spécifique d'huile essentielle et la masse d'un volume à 20°C d'eau. La relation suivante permet de calculer la densité relative :

$$d_{20}^{20} = \frac{m_2}{m_1} \frac{m_0}{m_0}$$

1) d_{20}^{20} : Densité relative à 20 °C.

2) m_0 : Masse de densimètre vide en g.

3) m_1 : Masse de densimètre rempli d'eau en g.

4) m_2 : Masse de densimètre rempli d'huile essentielle en g.

II.3.2.2. Mesure de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'HE maintenue à une température constante, Cet indice est mesuré à 20°C et rapporté à la raie D du sodium ($\lambda = 589$ nm). L'appareil utilisé pour cette mesure est un réfractomètre de type : CETI Prisma Refractometer Medline Scientific 8300.0000M.

$$n_D^{20} = n_D^T + 0,0004 (T - 20)$$

1) n_D^{20} : Indice de réfraction à 20 °C.

2) n_D^T : Indice de réfraction obtenue à la température de laboratoire.

3) T : Température de laboratoire.

4) 0,0004 : Coefficient de correction.



Figure 07 : Le réfractomètre.

II.3.2.3. Mesure du pouvoir rotatoire

Le pouvoir rotatoire d'une huile essentielle est un critère important de la pureté et permet d'indiquer si elle possède une activité optique dextrogyre ou lévogyre. L'appareil utilisé pour cette mesure est de type (Polarimètre POLAX-2L Cat.No.5223).(Figure 7)

Le pouvoir rotatoire est donné par la formule suivante :

$$\alpha^{20} = \frac{\alpha}{L \cdot C}$$

- 1) α^{20} : l'angle lu sur l'appareil en degrés.
- 2)L ; l'épaisseur du film (cellule) en dm.
- 3)C : la concentration de HE exprimée en g/100ml.



Figure 08 : Le polarimètre.

II.4. Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG / SM

Les constituants d'huile essentielle ont été analysés à l'aide d'un système de chromatographie en phase gazeuse Hewlett-Packard série 6890 (Agilent Technologies) équipé d'un détecteur à ionisation de flamme réglé à 280°C. La séparation a été réalisée en utilisant une colonne capillaire apolaire HP-5MS 5% Phenyl Methyl Silox (30 m x 250 μ m x 0,25 μ m). La température de la colonne a été initialement programmée à 60 ° C pendant 8 min et portée à 250°C à 2°C/min, puis a été maintenue de manière isothermique pendant 20 min. L'hélium a été utilisé en tant que gaz vecteur circulant à travers la colonne à un débit de 0,5 mL .min⁻¹. Le volume injecté est de 0.2 μ L. le mode d'injection : split et le ratio 1:50.

Les analyses chromatographiques CPG / SM ont été réalisées sur une colonne apolaire suivant la même programmation de température que celle de la GC-FID. Celle-ci a été couplée à un spectromètre de masse de série MSD 5973 C (Agilent Technologies). L'hélium a été utilisé en

tant que gaz vecteur avec un débit de 1,5 ml.min⁻¹. La température de l'injecteur est de 250°C. Un impact électronique à 70 eV a été utilisé.

I.4.1. Identification et semi-quantification

L'identification des composés volatils a été menée par comparaison de leurs indices de rétention et leurs spectres de masse à ceux des composés référencés dans les banques de données (Nist 2005, Adams 2007 et Wiley 2009).

Les indices de rétention ont été calculés à partir d'une série d'alcane (C₆-C₂₈) injectée dans les mêmes conditions chromatographiques que les échantillons à analyser, et ce à partir de l'équation de Van Den Dool, et Kratz, 1963.

Cette méthode tire parti de la relation de linéarité entre les valeurs de Log(t'_R) et le nombre d'atomes de carbone dans une molécule. La valeur de l'indice de Kovats est usuellement représenté par : (Hübschmann, 2009).

$$RI = 100 \cdot c + 100 \frac{\log (t'_R)_x - \log (t'_R)_c}{\log (t'_R)_{c+1} - \log (t'_R)_c}$$

Une simplification est utilisée qui a été introduite par van den Dool, et Kratz, où les temps de rétention directs sont utilisés au lieu des termes logarithmiques utilisés par Kovats : (Hübschmann, 2009).

$$RI = 100 \cdot c + 100 \frac{(t'_R)_x - (t'_R)_c}{(t'_R)_{c+1} - (t'_R)_c}$$

Avec :

- 1) **RI** : l'indice de rétention de Kovats ;
- 2) **C** : le nombre d'atomes de carbone dans le plus petit n-alcane ;
- 3) **C+1** : le nombre d'atomes de carbone dans le plus grand n-alcane ;
- 4) **t'_R** : le temps de rétention ajusté ;
- 5) **X** : le composé inconnu.

La semi-quantification des composés à identifier a été calculée à partir des surfaces des pics des chromatogrammes GC-FID.

III.5. Détermination de l'activité antioxydante par piégeage du radical libre DPPH•

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•). Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène (Figure 9). L'effet de chaque extrait sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite par Brand-Williams, et al., 1995.

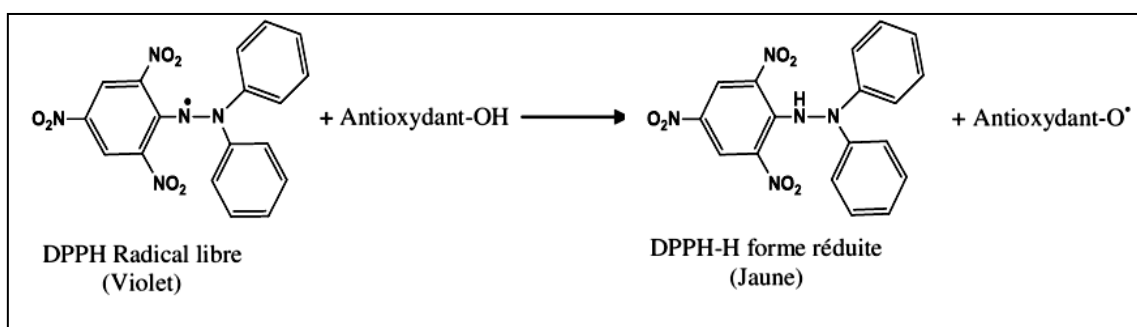


Figure 09 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH entre l'espèce radicalaire DPPH et un antioxydant.

III.5.1. Mesure d'absorbance par spectroscopie UV-visible

La spectrométrie d'absorption dans le domaine Ultra-Violet-visible a toujours été une technique de mise en œuvre facile, en s'appuyant sur la structure électronique d'un composé ou plutôt d'une fraction de ce composé pour mettre en évidence sa présence (analyse qualitative) et de connaître sa concentration (analyse quantitative). Son emploi est de plus en plus réservé à l'analyse quantitative via la loi de Beer-Lambert.

Le domaine concerné s'étale de 80 à 800 nm. L'intervalle du visible s'étale de 400 nm (bleu) à 800 nm (rouge). L'intervalle de l'UV proche s'étale de 200 nm à 400 nm et le domaine de l'UV lointain de 10 nm à 200 nm. Dans notre étude l'UV-vis a été utilisée pour des analyses quantitatives, on appliquant la loi de Beer-Lambert.

$$A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

1)A: absorbance. ϵ : le coefficient d'absorption molaire en L.mol⁻¹.cm⁻¹.

2)l: la longueur de cuve en cm.

3)C: la concentration de la solution en mol/l.

À l'aide d'un spectrophotomètre UV/Vis (Shimadzu 1280) contre le blanc qui contient 3 ml

de la solution du réactif et 3 ml du méthanol et il est incubé dans les mêmes conditions que l'échantillon. La vitamine C choisie comme standard a été traitée dans les mêmes conditions.



Figure 10 : L'appareil de spectroscopie UV-visible

Protocole expérimental

Pour la mesure de l'activité, une prise d'essai de 50 μ l d'extrait à différentes concentrations est mise en présence de 1950 μ l d'une solution de DPPH (60 μ M, préparée dans le méthanol). Le mélange est placé pendant 30 mn à l'abri de la lumière pour réagir et l'absorbance est mesurée à 517 nm contre un témoin négatif. L'acide ascorbique est utilisé comme antioxydant de référence et toutes les mesures sont faites en trois répétitions.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition, calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule :

$$I\% = \frac{A \text{ blanc} - A \text{ échant}}{A \text{ blanc}} \times 100$$

Où :

1) I% : Pourcentage d'inhibition.

2) A échant : l'indice d'absorbance de la solution de DPPH $\cdot$ en présence d'extrait;

3) A blanc : l'indice d'absorbance de la solution de DPPH $\cdot$ en absence d'extrait.

Les graphes de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations des échantillons, nous permettent d'obtenir la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration

DPPH• initiale à 50%. Cette valeur est appelée la concentration efficace EC_{50} et parfois notée IC_{50} . Une faible valeur d' EC_{50} correspondant à une grande efficacité de l'extrait. (Mahdjoubi, 2023)

Chapitre III

Résultats et discussion

III.1. Extraction et Caractérisation d'huile essentielle

III.1.1. Détermination de rendement

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de rhizome de curcuma langa. Le rendement est égal à $R=1\%$. Cette valeur est faible par rapport au travail de (Doctissimo, 2016) où le rendement est de 4 à 6 %.

III.1.2. Constantes physiques

L'huile essentielle avait une couleur jaune orange, était soluble dans l'éthanol avec le fort parfum caractéristique de curcuma langa. Les propriétés physiques tels que : la densité, l'indice de réfraction et le pouvoir rotatoire, constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile essentielle. Les résultats propres à la mesure de ces indices et comparés à la référence (Le Guehennec, et Monnatte-Lassus, 2014) sont consignés dans le tableau 3.

Tableau 3: Caractéristiques physiques d'huile essentielle étudiée

Propriété	Résultat	Référence
Densité d^{20}	0,929	0,925 à 0,945
Indice de réfraction 20°C	1,5115	1,505 à 1,515
Pouvoir rotatoire α_{20}	-15°	-30° à +5°

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques montrent que notre huile analysée est en accord avec la référence de comparaison. La détermination des indices physico-chimiques est une étape nécessaire mais non suffisante pour caractériser les huiles essentielles. Il est donc nécessaire de la compléter par des analyses chromatographiques CPG-SM, ces dernières sont souvent utilisées comme moyen analytique complémentaire pour l'analyse structurale des substances volatiles, elles ont été employées pour identifier quantitativement les huiles essentielles de notre plante.

III.2. Analyse par CPG / SM

L'identification des composants de l'huile essentielle soit réalisée en comparant leurs spectres de masse et leur KI (Kovats Index) avec les bases de données disponibles (Adams, 2001). Le pourcentage de chaque composé a été calculé en utilisant la méthode de normalisation à partir des aires de pic.

Vue qu'on n'a pas obtenu les résultats de l'analyse, nous avons mené une étude comparative entre différentes études réalisées sur le curcuma longa L. dans différents pays comme présente le **tableau 5**. La comparaison a révélé que il y a des composés terpéniques (des sesquiterpènes) majoritaires dans tous les études, et sont les suivants : **ar-tumerone** (18% à 68.9%), **α -tumerone** (10% à 32%), **β -tumerone** (10% à 33.8%) et **curlone** (10.6% à 13.9%). D'après ces remarques on peut prévoir avec une grande possibilité la présence de ces produits dans notre huile essentielle.

Tableau 4 : Comparaison de la composition des huiles essentielles de différents études

	Inde	Inde	Bhoutan	Bangladesh	Iran	Brésil	Japan	Inde	Inde
p-cymene	3			0.7			1.2		3
α/β -phellandrene	3	0.1	1.1						3
Camphor								3.2	
Camphene							5.5	2.7	
α/β -pinene						2.7	1.3	10.6	
Cineole		2.6	0.9			1.4			
Linalool							1		
ar-tumerone	31.1	31.7	25.7	27.8	68.9	18	42	14.6	31.1
α-tumerone	10	12.9	32	17.2	20.9		16.1		10
β-tumerone	10	12	18.4	17.2			16.1	33.8	10
ar-curcumene	6.3			3.3		1			6.3
ar-turmerol		0.1	1.3			1.1			
bisabolone	0.9			2					0.9
α -Zingiberene	tr	1.3	1.5	4.4	1.5	2.4		10.7	tr
(Z)- α -atlantone		1.5	1.1			0.6			
β -bisabolene	1.3			2.9	0.4				1.3
α/β -curcumene		1.3	1.4				4.2		
β -sesquiphellandrene	2.6			5.6	1.3	1.9	3.2		2.6
(Z)- γ -atlantone						44			
(E)- γ -atlantone						18.3			
curlone	10.6			13.9					10.6

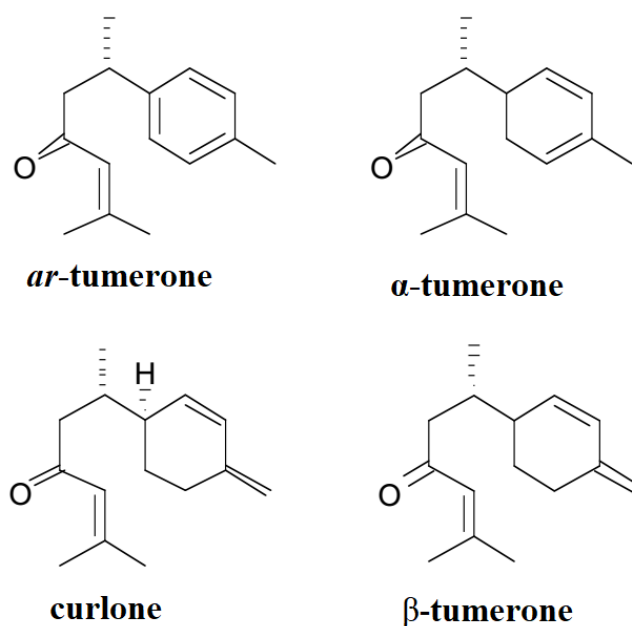


Figure 11 : Les composés terpéniques majoritaires dans les huiles essentielles de curcuma longa L

III.3. Détermination de l'activité antioxydante : piégeage du radical libre DPPH•

Les EC₅₀ sont calculés à partir de la partie linéaire des courbes de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en huile essentielle (figure 12 et 13), les valeurs de EC₅₀ sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 05 : Activité antioxydante d'huile essentielle de curcuma longa et de standard déterminé par le test DPPH

Extraits	EC ₅₀ (mg/ml)
Huile essentielle	22
Acide ascorbique	0,023

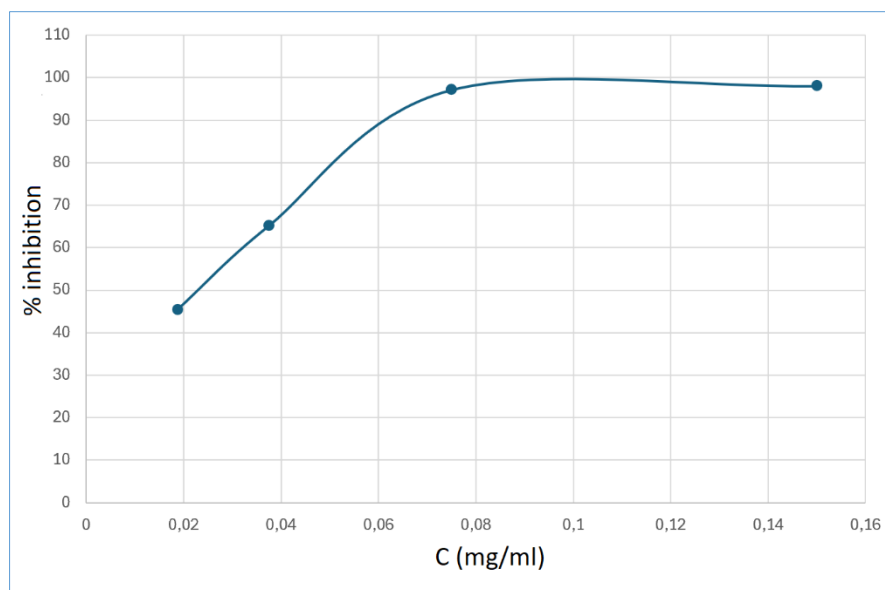


Figure 12 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'acide ascorbique

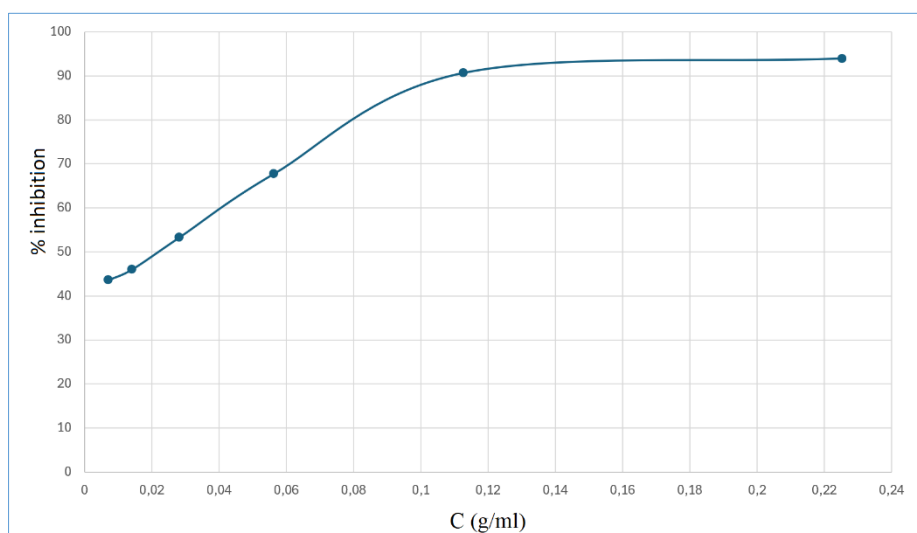


Figure 13 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration d'huile essentielle

Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif des travaux présentés dans ce mémoire est l'extraction d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa L. et l'étude de ces propriétés physique et activité anti-oxidante et sa composition chimique en utilisant l'analyse chromatographique couplé a la spectroscopie de masse. Cela nous permettra de mieux l'utiliser dans diverses utilisations médicinales et cosmétiques.

Les résultats obtenus des analyses physico-chimiques montrent que notre huile analysée est en accord avec la référence de comparaison.

D'après l'étude comparative entre différentes études réalisées sur le curcuma longa L. on peut prévoir avec une grande possibilité la présence des composés terpéniques (sesquiterpènes) majoritaires suivants : **ar-tumerone**, **α -tumerone** , **β -tumerone** et **curlone**.

A fin de déterminer l'activité antioxydante de notre huile essentielle on a utilisé la technique de piégeage du radical libre DPPH•. Le résultat montre un faible pouvoir antioxydant relatif, malgré le fait que le curcuma est connu comme un puissant antioxydant. Cela indique que l'activité antioxydante est due à d'autres constituants de la plante.

Références bibliographiques

Chibout S., Bousaïde K. (2023). Effet d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa L. sur la stabilité de l'huile de soja thermo oxydée. Mémoire de master génie pharmaceutique. Université Ammar Telidji. Laghouat.

Feryel, D. (2005). Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister. chimie appliquée. extraction et analyse de l'huile essentielle de cumin formulation d'une pommade de congestionnante. Université M'hamed Bouguera Boumerdes

Houda, B. Soraya, S. (2017). Mémoire de master. Biochimie/Nutrition Moléculaire et Santé. corrélation entre le contenu polyphénolique et l'activité antioxydante et antimicrobienne in vitro de Curcuma longa L. Mentouri Frères des Université Constantine.

Mahdjoubi, A. (2023). Elaboration et mise en évidence des propriétés antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles et extraits phénoliques de la plante locale : Salvia officinalis. Thèse de doctorat en sciences. Université Amar Telidji – Laghouat.

Shiyou L., Wei Y., Guangrui D., Ping W., Peiying Y. and Bharat Aggarwal B. (2011) Chemical Composition and Product Quality Control of Turmeric (Curcuma longa L.) Pharmaceutical Crops, 2, 28-54

Zahira M. Fatima M. (2022). Etude bibliographique du Curcuma longa L. Mémoire de master Biochimie. Université Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi

عنوان المذكرة : التحليل الكروماتوغرافي GC-MS واختبار الخصائص مضادة للأكسدة للزيوت العطرية من جذمور الكركم لونجا .

المؤطر : محجوبي الحاج عيسى

اللقب : مفتاح

الاسم : فاطمة الزهراء

الحاجة

الاسم: صابرين

اللقب : بن زيان

الملخص:

الهدف من هذا العمل هو استخلاص الزيت العطري من جذمور نبات الكركم ودراسة خصائصه الفيزيائية و النشاط المضاد للأكسدة وتركيبه الكيميائي باستخدام تحليل GC-MS. أظهرت النتائج احتمالية عالية لوجود المركبات التربينية التالية (sesquiterpenes): ar-tumerone, α -tumerone, β -tumerone و curlone.. لقد كان النشاط المضاد للأكسدة في زيتنا الأساسي منخفضا، مما يشير إلى أن النشاط المضاد للأكسدة في هذه النبتة يرجع إلى مكونات أخرى .

الكلمات الدالة : جذمور كركم لونجا، الزيوت العطرية، النشاط المضاد للأكسدة ،

Memory title: GC-MS chromatographic analysis and testing of the antioxidant properties of essential oil from curcuma longa L rhizomes.

Name: name:

Directed by: Mahdjoubi Hadj Aissa

Name: name:

Abstract:

The objective of the work presented in this dissertation is the extraction of essential oil from curcuma longa L. rhizomes and the study of these physical and antioxidant activity and properties and its chemical composition using analysis. The results show a high possibility of the presence of the following majority terpene compounds (sesquiterpenes): ar-tumerone, α -tumerone, β -tumerone and curlone.. the antioxidant activity of our essential oil is low, which indicates that the activity antioxidant is due to other constituents of the plant.

Key words: Rhizomes of curcuma longa L., Essential oils, GC-MS, DPPH,

Titre du mémoire : Analyse chromatographique GC-MS et test des propriétés antioxydantes d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa L.

Nom : MEFTAH Prénom : Fatima Zohra

Encadreur : Mahdjoubi Hadj Aissa

Nom : BENZIANE Prénom : Sabrine El Hadja

Résumé :

L'objectif des travaux présentés dans ce mémoire est l'extraction d'huile essentielle de rhizomes de curcuma longa L. et l'étude de ces propriétés physique et son activité antioxydante et sa composition chimique en utilisant l'analyse. Les résultats montrent une grande possibilité de la présence des composés terpéniques (sesquiterpènes) majoritaires suivants : ar-tumerone, α -tumerone, β -tumerone et curlone.. l'activité antioxydante de notre huile essentielle est faible ce qui indique que l'activité antioxydante est due à d'autres constituants de la plante.

Mots clés : Rhizomes de curcuma longa L., Huiles essentielles, GC-SM, DPPH,