

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et la recherche scientifique
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Mathématiques et de l'Informatique et des Sciences de la Matière
Département des sciences de la Matière



Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master

Spécialité : Chimie Physique

Thème :

**Etude phytochimique et extraction de la vitamine C
et des huiles essentielles de quelques plantes médicinales
Algériennes - évaluation de l'activité antioxydante.**

Présenté par:

Boukhedenna m^{ed} islem

Belabed houssem

Sous la direction de: Dr. Kolli El hadj

Année Universitaire : 2022/2023



Dédicace



Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents qui m'ont
encouragé et soutenu tout au long de
mon cursus.*

*Mes chers frères et sœurs surtout
l'adorable Ali.*

Mon binôme Housseem

*Ainsi qu'à tous les étudiants de la
promotion Master de chimie.*





Dédicace



Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents qui m'ont
encouragé et soutenu tout au long
de mon cursus.*

Ma chère sœur.

Mon binôme Islem

*Ainsi qu'à tous les étudiants de la
promotion Master de chimie.*



Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir aidés et de nous avoir donné la foi et la force pour achever ce modeste travail.

Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à Monsieur le Docteur: **KOLLI ELHADJ**, qui nous a encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il nous a accordé, nous ont permis de réaliser ce travail.

Un grand merci aux membres de Labo de chimie
(faculté SM).

SOMMAIRE

| Titre | Page |
|--|------|
| Introduction générale | 1 |
| Chapiter I: Généralités sur les huiles essentielles | |
| I. Introduction | 3 |
| I.1. Les huiles essentielles | 4 |
| I.1.1. Définitions | 4 |
| I.1.2. Histoire et origine | 5 |
| I.2. Utilisations des huiles essentielles | 6 |
| I.3. Les vertus des huiles essentielles | 6 |
| I.4. Localisation des huiles essentielles | 7 |
| I.5. Le rôle physiologique des huiles essentielles | 7 |
| I.6. Caractéristiques et propriétés physiques | 8 |
| I.7. Composition chimique | 8 |

| Titre | Page |
|--|------|
| I.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles | 12 |
| I.8.1. L'hydro-distillation | 12 |
| I.8.2. L'entraînement à la vapeur d'eau | 13 |
| I.8.3. L'hydrodiffusion | 14 |
| I.8.4. L'extraction par expression | 14 |
| I.8.5. L'extraction par solvant | 14 |
| I.8.6. L'extraction assistée par micro-ondes | 15 |
| I.8.7. L'extraction par CO₂ super critique | 16 |
| I.9. Références | 17 |
| Chapiter II: Les métabolites secondaires des familles rutacées, myrtacées, astéracées et apiacées | |
| II.1.Introduction | 18 |
| II.2. La famille des rutacées | 19 |
| II.2.1. L'espèce de <i>Citrus aurantium</i> | 19 |
| II.2.2. Métabolites secondaires de <i>Citrus aurantium</i> | 20 |

| Titre | Page |
|---|------|
| II.2.2.1. Les flavonoïdes | 20 |
| II.2.2.2. Les coumarines | 21 |
| II.2.2.3. Les acides phénoliques | 22 |
| II.2.2.4. Les huiles essentielles | 23 |
| II.2.3. L'activité biologique de <i>Citrus aurantium</i> | 26 |
| II.3. La famille de <i>Syzygium aromaticum</i> | 27 |
| II.3.1. L'espèce de <i>Syzygium aromaticum</i> | 27 |
| II.3.2. Métabolites secondaires du <i>Syzygium aromaticum</i> | 28 |
| II.3.2.1 L'huile essentielle de <i>Syzygium aromaticum</i> | 29 |
| II.3.3. L'activité biologique de <i>Syzygium aromaticum</i> | 31 |
| II.4. La famille des Astéracées | 31 |
| II.4.1. Définition de la plante <i>Artemisia herba-alba Asso</i> | 32 |
| II.4.2. Métabolites secondaires d' <i>Artemisia herba-alba Asso</i> | 32 |
| II.5. La famille des Apiacées | 32 |

| Titre | Page |
|--|------|
| II.5.1. Le métabolisme secondaire de <i>Petroselinum crispum</i> | 33 |
| II.6. Les vitamines | 33 |
| II.6.1. La vitamine C | 34 |
| II.7. Références | 36 |
| Chapiter III: Partie expérimentale | |
| III.1. Extraction de la vitamine C de plante <i>Petroselinum crispum</i> | 39 |
| III.1.1. Description botanique de la plante | 39 |
| III.1.2. Mode opératoire | 39 |
| III.1.3. Dosage de la vitamine C dans de l'extrait (Ex. Vit.C) | 40 |
| III.2. Extraction de la plante <i>Citrus aurantium</i> | 42 |
| III.2.1. Description botanique de la plante | 42 |
| III.2.2. Récolte du matériel végétal | 42 |
| III.2.3. Préparation du matériel végétal | 42 |
| III.2.4. Extraction des principes actifs | 43 |

| | |
|--|----|
| III. 2.4.1. Extraction solide/liquide | 43 |
| III. 2.4.2. Extraction liquide/liquide | 43 |
| III.3. Séparation et purification d'une fraction issue de la phase dichloromethane de l'espèce <i>Artémisia Herba alba</i> | 44 |
| III.3.1. Test chromatographique sur CCM | 44 |
| III.3.2. Séparation chromatographique sur colonne | 44 |
| III.4. Extraction des huiles essentielles | 45 |
| III.4.1. Extraction des huiles essentielles de la plante <i>Citrus aurantium et Syzygium aromaticum</i> | 45 |
| III.4. Références | 48 |
| Chapitre IV: Résultats et activité antioxydante des huiles | |
| IV.1. Dosage de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C) | 49 |
| IV.2. Infrarouge de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C) | 49 |
| IV.3. Infrarouge des huiles essentielles | 50 |
| IV. 3.1. Infrarouge d'huile essentielle d'oranger amer « <i>Citrus aurantium</i> » | 50 |
| IV.3.2. Infrarouge d'huile essentielle du girofle | 52 |
| IV.4. Activité antioxydante des huiles essentielles | 55 |

| | |
|----------------------------|----|
| IV.4. Références | |
| Conclusion générale | 59 |

Liste des figures

| N° de la figure | Titre | page |
|-----------------|---|------|
| I.1 | <i>Quelques exemples d'huiles essentielles</i> | 04 |
| I.2 | <i>Un exemple d'image au microscope d'une huile essentielle de lavande (A: x40. B,C: x100).</i> | 05 |
| I.3 | <i>Quelques utilisations des huiles essentielles</i> | 06 |
| I.4 | <i>L'image représente (A: une plante d'orange. B: une plante de lavande).</i> | 07 |
| I.5 | <i>Certains Terpènes des He's</i> | 09 |
| I.6 | <i>Certains cétones des He's</i> | 09 |
| I.7 | <i>Certains Alcools des He's</i> | 10 |
| I.8 | <i>Certains Esters des He's</i> | 10 |
| I.9 | <i>Certains Aldéhydes des He's</i> | 11 |
| I.10 | <i>Certains Phénols des He's</i> | 12 |
| I.11 | <i>Schéma d'hydro-distillation</i> | 13 |
| I.12 | <i>Schéma d'entraînement à la vapeur d'eau</i> | 13 |
| I.13 | <i>Schéma d'hydrodiffusion</i> | 14 |

| N° de la figure | Titre | page |
|-----------------|--|------|
| I.14 | <i>Schéma d'extraction par solvant</i> | 15 |
| I.15 | <i>Schéma d'extraction assistée par micro-ondes</i> | 15 |
| I.16 | <i>Schéma d'extraction par CO₂ super critique</i> | 16 |
| II.1 | <i>(a) Citrus limon (b) Citrus aurantium</i> | 19 |
| II.2 | <i>Structures chimiques de quelques types de flavonoïdes</i> | 21 |
| II.3 | <i>Structures chimiques de quelques types de coumarines</i> | 22 |
| II.4 | <i>Structures chimiques de quelques types d'acides phénoliques</i> | 23 |
| II.5 | <i>Structures chimiques de quelques composés d'huile essentielle de Citrus aurantium</i> | 24 |
| II.6 | <i>Chromatogramme GC/MS d'HE de C. aurantium var. dulce</i> | 24 |
| II.7 | <i>Chromatogramme GC/MS d'HE de C. aurantium amara</i> | 25 |
| II.8 | <i>représente quelques espèces de la famille des Myrtacées</i> | 27 |
| II.9 | <i>Espèce de Syzygium aromaticum</i> | 28 |
| II.10 | <i>Représente les deux vitaminé A et D₃.</i> | 34 |
| II.11 | <i>La structure de la vitamine (c)</i> | 35 |
| | | |

| | | |
|--------------|--|----|
| III.1 | <i>Petroselinum crispum</i> | 38 |
| III.2 | <i>l'appareil de centrifugeuse</i> | 38 |
| III.3 | <i>Citrus aurantium</i> | |
| III.4 | <i>Matière végétale de Citrus aurantium</i> | 45 |
| IV.1 | <i>Structure de la vitamine C</i> | 47 |
| IV.2 | <i>Spectre infrarouge de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C)</i> | 47 |
| IV.3 | <i>Spectre infrarouge de référence</i> | 48 |
| IV.4 | <i>Spectre infrarouge d'huile de Citrus aurantium</i> | 49 |
| IV.5 | <i>Spectre infrarouge d'huile de Citrus aurantium (selon origin)</i> | 49 |
| IV.6 | <i>Structure et infrarouge du limonène</i> | 50 |
| IV.7 | <i>Spectre infrarouge d'huile de girofle</i> | 51 |
| IV.8 | <i>Spectre infrarouge d'huile du girofle (selon origin)</i> | 51 |
| IV.9 | <i>(A) Structure d'eugénol et (B) acétate d'eugényl</i> | 52 |
| IV.10 | <i>Réaction du DPPH avec l'antioxydant</i> | 53 |
| IV.12 | <i>IC₅₀ des huiles et de la vitamine C</i> | 55 |

Liste des tableaux

| N° de tableau | Titre | Page |
|----------------------|--|-------------|
| I.1 | <i>Rendements de la distillation de quelques drogues courantes .</i> | 8 |
| II.1 | <i>Composition chimique de l'huile essentielle de C. aurantium var. dulce, et les indices de rétention calculés (IR)</i> | 25 |
| II.2 | <i>Composition chimique de l'huile essentielle de C. aurantium amara, les indices de rétention calculés (IR).</i> | 26 |
| II.3 | <i>Les résultats de l'analyse par Chromatographie gazeuse de l'HE du clou de girofle.</i> | 30 |
| III.1 | <i>Résultats des fractions récoltées de la colonne d'une fraction issue de l'extrait dichlorométhane d'Artémisia Herba alba.</i> | 43 |
| IV.1 | <i>Interprétation du spectre IR de la vitamine C</i> | 48 |
| IV.2 | <i>Interprétation du spectre IR d'huile essentielle d'oranger amer</i> | 50 |
| IV.3 | <i>Interprétation du spectre IR d'huile essentielle du girofle</i> | 52 |
| IV.4 | <i>Résultats d'activité antioxydante au DPPH des huiles et vitamine C.</i> | 54 |

Liste des Abréviations

He : L'huile essentielle

He's : les huiles essentielles

A-ox: antioxydantes

A-in: anti-inflammatoires

Ar: aromatiques

Ca: *Citrus aurantium*

Sa: *Syzygium aromaticum*

Vit.C: Vitamin c

Vitamin c: Acide ascorbique

IR: infrarouge

DPPH: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

HE O A: L'huile essentielle d'orange amer

HE G: L'huile essentielle clou de girofle

Réf Vit C: Référence vitamine c

IC₅₀: indice d'inhibition

%: le pourcentage

CCM : Chromatographie couche mince

(Na⁺,Cl⁻) : Chlorure de Sodium

Na₂SO₄ : Sulfate de Sodium Anhydre

UV : Ultra-violet

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Résumé

Le but essentiel de ce travail est consacré sur l'extraction des huiles essentielles de girofle et d'oranger amère par la méthode d'hydrodistillation, ainsi que l'extraction de la vitamine C du persil et aussi l'étude phytochimique des feuilles d'oranger amer, la purification d'une fraction issues de la phase dichloromethane d'*Artemisia herba alba* (armoïse blanche) et l'évaluation de l'activité antioxydante des huiles obtenue.

Les extraits obtenus des huiles essentielles de girofle et d'oranger amer ainsi que l'acide ascorbique provenant de l'extraction du persil sont soumises aux analyses spectroscopique de l'infrarouge à transformée de fourrier (FT-IR) pour confirmer la pureté et la composition chimique de ces extraits, les huiles essentielles aussi sont analysées par la spectroscopie UV visible pour évaluer leurs activités antioxydants.

Les résultats obtenus montrent d'une part la pureté et la richesse des huiles essentielles en composés chimiques tels que l'eugénol (84.01 %), acétate d'eugényl (13.01 %), des composés majoritaires de l'huile de girofle et de limonène (0.40 %) le composé majoritaire de l'huile essentielle d'oranger amer, d'autre part la bonne séparation de la vitamine C à l'état nature vu la présence dans le spectre d'infrarouge les bandes caractéristiques des fonctions comme le carbonyle (C=O), alcène ($R_2C=CR_2$), C-O(alcool) et C-O (éther).

L'activité antioxydante des huiles essentielles basée sur la méthode de piégeage du radical libre DPPH à donner des résultats satisfaisante, et montre que l'activité antioxydante de l'huile essentielle de girofle ($IC_{50} = 0.75 \mu\text{g/mL}$) est plus forte que celle de l'oranger amer ($IC_{50} = 1.30 \mu\text{g/mL}$) et du témoin ($IC_{50} = 5.00 \mu\text{g/mL}$).

Abstract

The main purpose of this work is devoted to the extraction of essential oils of clove and bitter orange by the method of hydrodistillation, as well as the extraction of vitamin C from parsley and also the phytochemical study of the leaves of bitter orange tree, purification of a fraction from the dichloromethane phase of *Artemisia herba alba* (mugwort) and evaluation of the antioxidant activity of the oils obtained.

The extracts obtained from the essential oils of clove and bitter orange as well as the ascorbic acid from the extraction of parsley are subjected to spectroscopic analyzes of the infrared with Fourier transform (FT-IR) to confirm the purity and the chemical composition of these extracts, essential oils are also analyzed by visible UV spectroscopy to assess their antioxidant activities.

The results obtained show on the one hand the purity and richness of essential oils in chemical compounds such as eugenol (84.01%), eugenyl acetate (13.01%), major compounds of clove oil and limonene (0.40%) the majority compound of bitter orange essential oil, on the other hand the good separation of vitamin C in its natural state given the presence in the infrared spectrum of the characteristic bands of functions such as carbonyl (C=O), alkene (R₂C=CR₂), C-O (alcohol) and C-O (ether).

The antioxidant activity of essential oils based on the DPPH free radical scavenging method to give satisfactory results, and shows that the antioxidant activity of clove essential oil (IC₅₀ = 0.75 µg/mL) is stronger than that bitter orange (IC₅₀ = 1.30 µg/mL) and control (IC₅₀ = 5.00 µg/mL).

ملخص

الغرض الرئيسي من هذا العمل هو استخلاص الزيوت العطرية من القرنفل والبرتقال المر بطريقة التقطير المائي ، وكذلك استخراج فيتامين ج من البقدونس و الدراسة الفيتوكيميائية لأوراق شجرة البرتقال المر وتنقية جزء من طور ثنائي كلورو ميثان من نبات (*Artemisia herba alba*) وتقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت التي تم الحصول عليها.

المستخلصات التي تم الحصول عليها من الزيوت الأساسية للقرنفل والبرتقال المر وكذلك حمض الأسكوربيك المتحصل عليه من البقدونس لتحليل طيفي للأشعة تحت الحمراء مع تحويل فورييه (FT-IR) للتأكد من النقاوة والتركيب الكيميائي لهذه المستخلصات ، تم أيضاً تحليل الزيوت الأساسية عن طريق التحليل الطيفي للأشعة فوق البنفسجية لتقييم نشاطها المضاد للأكسدة.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر من ناحية نقاوة و ثراء الزيوت العطرية بالمركبات الكيميائية مثل الأوجينول (84.01%) ، أسيتات الأوجينيل (13.01%) ، المركبات الرئيسية لزيت القرنفل والليمونين (0.40%) المركب الاساسى لزيت العطري للبرتقال المر، من ناحية أخرى ، تم الفصل الجيد لفيتامين C في حالته الطبيعية نظراً لوجود إشارات مميزة من في طيف الأشعة تحت الحمراء للوظائف مثل الكربونيل ($C = O$) والألكين ($R_2C = CR_2$) و $C-O$ (كحول) و $C-O$ (الأثير).

النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية تم تقييمه على أساس طريقة إزالة الجذور الحرة DPPH و قد اعطى نتائج مرضية ، ويظهر أن النشاط المضاد للأكسدة لزيت القرنفل الأساسي ($IC_{50} = 0.75$) ميكروغرام / مل ($IC_{50} = 1.30$) أقوى من النشاط المضاد للأكسدة لزيت البرتقال المر (ميكروغرام / مل) والفيتامين C (ميكروغرام / مل $IC_{50} = 5.00$).



Introduction générale

Introduction Générale

Les extraits végétaux, les huiles essentielles, la vitamine C et sont des composants naturels utilisés depuis longtemps dans le domaine de la santé et du bien-être. Chacun de ces éléments possède des propriétés uniques et bénéfiques pour notre corps et notre esprit. Dans ce texte, nous explorerons brièvement les huiles essentielles, la vitamine C et les extraits végétaux, en mettant en évidence leurs avantages et leurs utilisations dans différents domaines.

Les extraits végétaux sont des substances concentrées obtenues à partir de plantes par différents procédés d'extraction, tels que l'infusion, la décoction ou l'extraction par solvant. Ils contiennent une variété de composés actifs bénéfiques pour la santé. Les extraits végétaux peuvent provenir de différentes parties des plantes, y compris les feuilles, les fleurs, les racines ou les écorces. Ils sont largement utilisés dans les domaines de la médecine traditionnelle, de la phytothérapie et de la cosmétique. Par exemple, l'extrait de camomille est utilisé pour ses propriétés anti-inflammatoires et apaisantes sur la peau, tandis que l'extrait de curcuma est réputé pour ses effets antioxydants et anti-inflammatoires. Les extraits végétaux peuvent être trouvés sous forme de teintures, de capsules, d'huiles ou d'ingrédients dans les produits cosmétiques et les compléments alimentaires [1,2].

Les huiles essentielles sont des substances aromatiques concentrées extraites de plantes médicinales. Elles sont utilisées depuis des siècles pour leurs propriétés thérapeutiques et leurs arômes agréables [3]. Ces huiles sont obtenues par distillation ou extraction à partir de différentes parties de la plante, telles que les fleurs, les feuilles, les tiges ou les écorces. Chaque huile essentielle possède un profil chimique unique, ce qui lui confère des propriétés spécifiques. Par exemple, l'huile essentielle de lavande est réputée pour ses effets apaisants et relaxants, tandis que l'huile essentielle de menthe poivrée est souvent utilisée pour soulager les maux de tête et les troubles digestifs. Les huiles essentielles peuvent être utilisées de différentes manières, notamment par inhalation, application topique ou ingestion, selon les recommandations appropriées. Leur utilisation est répandue dans les domaines de l'aromathérapie, de la cosmétique naturelle et de la médecine alternative [4, 5].

La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble que notre corps ne peut pas produire par lui-même. Elle joue un rôle essentiel dans le maintien de notre santé globale. La vitamine C est présente dans de nombreux aliments, tels que les agrumes, les baies, les poivrons et les légumes verts à feuilles. Elle est connue pour son rôle dans le soutien du système immunitaire, la promotion de la santé de la peau, la protection contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres, et l'amélioration de l'absorption du fer dans notre organisme. En outre, la vitamine C est souvent utilisée comme complément alimentaire pour compenser les carences ou augmenter les niveaux de cette vitamine dans le corps. Elle est également utilisée en cosmétique pour ses propriétés antioxydantes et éclaircissantes [6].

Notre travail s'articule sur plusieurs axes dont la première est basé sur l'étude phytochimique des espèces *Citrus aurantium* et *Artemisia herba-alba* Asso, ainsi que l'extraction des huiles essentielles de *Citrus aurantium* et *Syzygium aromaticum* et de la vitamine C de l'espèce *Petroselinum crispum*, ensuite nous avons évaluée l'activité antioxydante des huiles obtenue.

Ce manuscrit est reparti en quatre chapitres :

Dans le premier, nous présentons des généralités sur les huiles essentielles, dans lequel nous exposons des définitions, utilisations, propriétés physiques et biologiques des huiles essentielles ainsi que leurs méthodes d'extractions.

Le second chapitre est consacré à la présentation de métabolites secondaires des familles des rutacées, myrtacées, astéracées et Apiacées, Nous avons développé également les métabolites secondaires des espèces étudiées ainsi un aperçu bibliographique sur la vitamine c.

Le troisième chapitre est consacré aux travaux personnelles renfermant toutes les étapes d'extraction solide-solide, solide-liquide ainsi que l'extraction des huiles et de la vitamine c, séparation sur colonne et plaques CCM.

Le quatrième chapitre concerne les résultats obtenus et l'activité antioxydante des huiles, nous avons exposé les spectres infrarouges des huiles extraites et de la vitamine C, l'ultra-violet visible des huiles et nous terminons notre travail par une conclusion générale.

Références

- [1] Gupta, S. C., Patchva, S., and Aggarwal, B. B. (2013). Therapeutic roles of curcumin: Lessons learned from clinical trials. *The AAPS Journal*, 15(1), 195-218.
- [2] Faller, A. L. K., and Fialho, E. (2019). Polyphenol extraction methods from natural matrices: A review. *Molecules*, 24(19), 3554.
- [3] Boukhebt H., Chaker .A. N., Belhadj H., Sahli F., Ramdhani .M., Laouer .H. and Harzallah .D, (2011), Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils, *Scholars Research Library, Der Pharmacia Lettre*, 3 (4) 267-275, p. 10.
- [4] Jazet-dongmo .p. m., Kuate j., Boyom f. f., Ducelier d., Damesse f., Amvam zollo p. h., Menut c. et Bessiere j. m., (2002), Composition chimique et activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Citrus* sur la croissance mycélienne de *Phaeoramularia angolensis*, *Fruits*, vol. 57, p. 95–104.
- [5] Tisserand, R., and Young, R. (2014). *Essential oil safety: A guide for health care professionals* (2nd ed.). Churchill Livingstone.
- [6] Carr, A. C., and Maggini, S. (2017). Vitamin C and immune function. *Nutrients*, 9(11), 1211.



Chapitre I

I. Introduction

Les He's sont des substances naturelles extrêmement concentrées, obtenues à partir de plantes, qui captent l'essence odorante et les composés actifs des végétaux. Elles sont utilisées depuis des millénaires dans diverses cultures à des fins thérapeutiques, cosmétiques et aromatiques. Les He's possèdent une variété de propriétés bénéfiques pour la santé, allant de leurs effets apaisants sur le corps et l'esprit à leurs propriétés antiseptiques et A-in.

Les He's sont extraites par différents procédés, tels que la distillation à la vapeur, l'expression à froid ou la macération. Chaque He a sa propre composition chimique spécifique, ce qui lui confère des caractéristiques et des bienfaits uniques. Les plantes utilisées pour extraire ces huiles peuvent être des fleurs, des feuilles, des racines ou des écorces.

L'utilisation des He's peut se faire de plusieurs manières, notamment par inhalation, application topique ou ingestion, bien que cette dernière méthode soit généralement réservée à un usage médical spécifique et sous la supervision d'un professionnel de la santé. L'inhalation est souvent privilégiée grâce à l'aromathérapie, qui consiste à respirer les arômes des He's pour stimuler les sens et favoriser une sensation de bien-être.

Les He's sont couramment utilisées pour traiter une variété de problèmes de santé, tels que les douleurs musculaires, les troubles du sommeil, le stress, les maux de tête, les problèmes digestifs et les infections cutanées. Cependant, il est important de noter que les He's ne sont pas des remèdes miracles et doivent être utilisées avec prudence. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé avant d'utiliser des He's, surtout si vous avez des problèmes de santé préexistants ou si vous prenez d'autres médicaments.

En conclusion, les He's offrent une approche naturelle et polyvalente pour améliorer notre bien-être physique et émotionnel. Leur utilisation remonte à des milliers d'années et continue d'être appréciée dans le cadre de différentes pratiques de médecine alternative et de bien-être. Cependant, il est essentiel de se renseigner sur chaque huile essentielle spécifique et de les utiliser avec précaution pour maximiser leurs bienfaits tout en minimisant les risques potentiels [1-2].

I.1. Les huiles essentielles

Ce qui fait qu'un végétal est dit « à He », c'est sa capacité à développer des structures anatomiques de stockage de composés organiques volatils (poches d'He au sommet de trichomes de la menthe, canaux résinifères des aiguilles de pin, poche d'He dans le flavido des agrumes).



Figure I.1: *Quelques exemples d'huiles essentielles.*

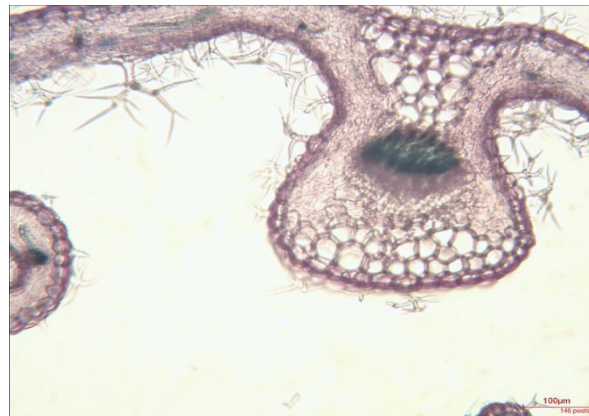
I.1.1. Définitions

- Selon l'Organisation internationale de normalisation (ISO), les He's sont définies comme « les produits obtenus à partir de matières végétales, soit par distillation à la vapeur d'eau ou par traitement mécanique des écorces d'agrumes, soit par distillation sèche ou par matière végétale appropriée, généralement en l'absence de la conduite des solvants » [3].
- Selon l'American Holistic Aromatherapy Association (NAHA), les He's sont définies comme "des liquides volatils distillés à partir de plantes qui contiennent des propriétés aromatiques et sont utilisées à diverses fins thérapeutiques et cosmétiques" [4].
- L'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé) donne une autre définition des He's: « Une He est un liquide volatil aromatique obtenu par entraînement à la vapeur ou par pressage (pressage à froid) d'écorces, ou par séchage d'une plante ou animal. Les He's sont composées d'un grand nombre de constituants chimiques qui leur confèrent leur parfum caractéristique et leurs propriétés thérapeutiques »[5].

(A)



(B)



(C)



Figure I.2: *Un exemple d'image au microscope d'une huile essentielle de lavande (A: x40, B,C: x100).*

I.1.2. Histoire et origine

- L'histoire et l'origine des He's remontent à l'antiquité où elles étaient utilisées à des fins médicinales, cosmétiques et aromatiques. L'utilisation des He's remonte à au moins 3500 avant JC en Egypte, lorsqu'elles étaient utilisées dans les cérémonies religieuses, les parfums et les cosmétiques. Les Grecs, les Romains et les Chinois utilisaient également des He's pour la guérison [6].
- Au XXe siècle, l'ère moderne des He's a été initiée par la découverte des actions antimicrobiennes des He's par le chimiste français René-Maurice Gatte fossé, ainsi que par le développement des méthodes de distillation à la vapeur. De nos jours, l'utilisation des He's en aromathérapie et comme forme complémentaire de médecine a gagné en popularité [7].

I.2. Utilisations des huiles essentielles

Les He's sont utilisées dans de nombreux domaines:

- ❖ **Aromathérapie:** Les He's sont couramment utilisées en aromathérapie pour leurs propriétés thérapeutiques. Ils peuvent être inhalés, diffusés dans l'air, ajoutés au bain ou mélangés à une huile de support pour le massage.
- ❖ **Cosmétiques:** Les He's sont également utilisées dans la fabrication de cosmétiques tels que les lotions, les crèmes, les shampoings et les savons en raison de leurs bienfaits pour la peau et les cheveux.
- ❖ **Alimentation:** Certaines He's sont utilisées comme additifs alimentaires pour améliorer la saveur ou la fraîcheur des aliments. Cependant, Il est important de noter que toutes les He's ne sont pas propres à la consommation et que certaines peuvent être toxiques en cas d'ingestion.
- ❖ **Produits ménagers:** Les He's sont souvent utilisées comme alternatives naturelles aux nettoyants ménagers. Par exemple, l'huile essentielle de citron peut être utilisée pour nettoyer et désinfecter les surfaces.
- ❖ **Autres utilisations:** Les He's peuvent également être utilisées pour repousser les insectes, soulager les maux de tête, les nausées, les douleurs musculaires et améliorer la qualité du sommeil [1].



Figure I.3: *Quelques utilisations des huiles essentielles*

I.3. Les vertus des huiles essentielles

Les He's sont connues pour leurs nombreuses vertus et propriétés bénéfiques pour la santé et le bien-être. Voici quelques-unes des vertus courantes des He's:

- ❖ **Propriétés anti-inflammatoires:** certaines He's, comme l'huile de lavande et l'huile d'encens, sont connues pour leurs propriétés A-in et peuvent aider à soulager la douleur et l'inflammation.

- ❖ **Effets apaisants:** les He's comme l'huile de camomille et l'huile de lavande sont souvent utilisées pour leurs effets apaisants et relaxants sur l'esprit et le corps.
- ❖ **Propriétés antiseptiques:** certaines He's, comme l'huile d'arbre à thé, ont des propriétés antiseptiques et antibactériennes et peuvent aider à désinfecter les plaies et les coupures.
- ❖ **Effets stimulants:** certaines He's, comme l'huile de menthe poivrée, sont connues pour leurs effets stimulants et peuvent aider à améliorer la concentration et la vigilance.
- ❖ **Propriétés antifongiques:** certaines He's, comme l'huile de thym, ont des propriétés antifongiques et peuvent aider à traiter les infections fongiques [1].

I.4. Localisation des huiles essentielles

Les He's se trouvent dans différentes parties de la plante, telles que les fleurs, les feuilles, les racines, l'écorce, les tiges et les graines. Selon la plante, certaines parties peuvent contenir une plus grande quantité d'He que d'autres. Par exemple, les He's de citron et d'orange se trouvent principalement dans l'écorce du fruit, tandis que les He's de lavande et de romarin se trouvent principalement dans les fleurs et les feuilles de la plante [2].

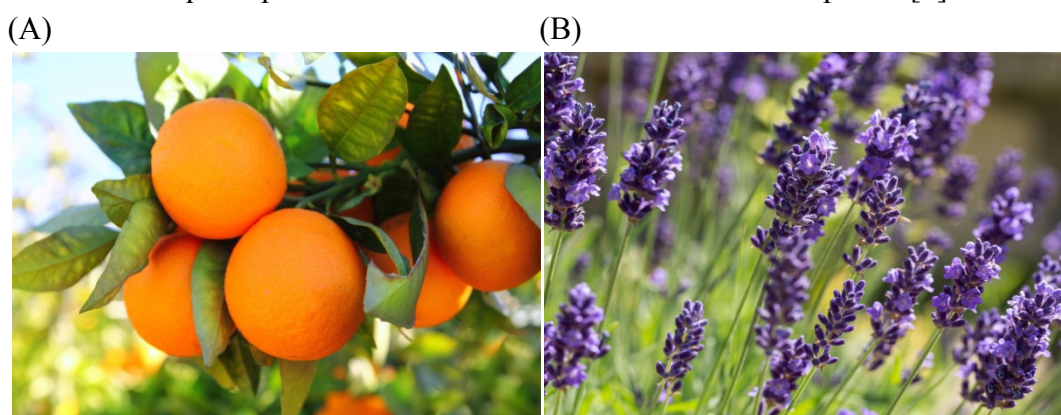


Figure I.4: *L'image représente (A: une plante d'orange. B: une plante de lavande).*

I.5. Le rôle physiologique des huiles essentielles

- Les He's jouent un rôle physiologique important en raison de leur composition chimique complexe. Chaque He a une composition unique, qui peut avoir des effets différents sur le corps et l'esprit. Certaines He's ont des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques, A-in, antispasmodiques, analgésiques, calmantes, stimulantes et aphrodisiaques.
- Les He's peuvent être utilisées de différentes manières pour améliorer la santé et le bien-être. Elles peuvent être utilisées en aromathérapie, en inhalation, en application topique et en ingestion, en fonction des précautions appropriées à chaque méthode d'utilisation.
- Toutefois, il est important de noter que les He's ne doivent pas être utilisées comme traitement exclusif pour des conditions médicales graves. Elles peuvent être utilisées en complément d'un traitement médical approprié. Il est également important de

prendre des précautions lors de l'utilisation des He's, car certaines d'entre elles peuvent être toxiques si elles sont mal utilisées [8].

I.6. Caractéristiques et propriétés physiques

Les He's sont des liquides aromatiques volatils extraits de plantes par distillation à la vapeur d'eau ou par pression à froid. Elles possèdent des caractéristiques physiques et des propriétés uniques qui dépendent de leur composition chimique.

Voici quelques caractéristiques physiques et propriétés courantes des He's :

- **Couleur:** la couleur des He's peut varier du jaune clair au jaune foncé, en passant par l'orange, le vert et le bleu.
- **Odeur:** Chaque He a une odeur unique, qui peut être douce, herbacée, florale, épicée, boisée, fruitée ou mentholée.
- **Densité:** les He's sont généralement légères et volatiles, avec une densité allant de 0,80 à 1,10 g/mL.
- **Miscibilité:** les He's sont insolubles dans l'eau, mais elles sont solubles dans les solvants organiques tels que l'alcool, l'huile végétale et les éthers.
- **Point d'ébullition:** les He's ont un point d'ébullition bas, qui varie de 50°C à 290°C selon l'He.
- **Propriétés antimicrobiennes:** de nombreuses huiles essentielles ont des propriétés antimicrobiennes qui leur permettent de tuer ou d'inhiber la croissance des bactéries, des virus et des champignons.
 - ✓ Ces caractéristiques physiques et propriétés des He's peuvent varier en fonction de la plante d'origine, de la méthode d'extraction et de la qualité de l'He [2].

Tableau I.1: Rendements de la distillation de quelques drogues courantes [9].

| Plante | Organe producteur Distillé | Poids de matérielle nécessaire à l'obtention d'1 Kg d'HE |
|-------------------|-------------------------------|---|
| Clou de girofle | Boutons floraux séchés | 7Kg |
| Badinage de chine | fruits | 20 Kg |
| Ylang- ylang | fleurs | 50 Kg |
| Lavandin | Sommités fleuries | 50 Kg |
| Lavande vraie | Sommités fleuries | 150 Kg |
| Menthe poivrée | feuilles | 1000 Kg |
| Thym vulgaire | parties aériennes | 1200 Kg |
| Rose de damas | pétales | 4000 Kg |

I.7. Composition chimique

La composition chimique des He's varie en fonction de la plante d'origine, de la partie de la plante utilisée, du climat, du sol, de l'époque de la récolte et de la méthode d'extraction. Cependant, toutes les He's sont composées de molécules aromatiques volatiles, telles que les terpènes, les cétones, les alcools, les esters, les aldéhydes et les phénols. Voici quelques exemples de composants chimiques courants dans les He's:

- ❖ **Terpènes:** ce sont les composés les plus courants dans les He's. Les exemples incluent le limonène, le pinène, le myrcène et le linalool. Les terpènes sont souvent responsables de l'odeur de l'He.



Figure I.5: Certains Terpènes des He's

- ❖ **Les cétones:** ce sont des composés qui ont des propriétés sédatives et antispasmodiques. Le camphre, la menthone et la carvone en sont des exemples.

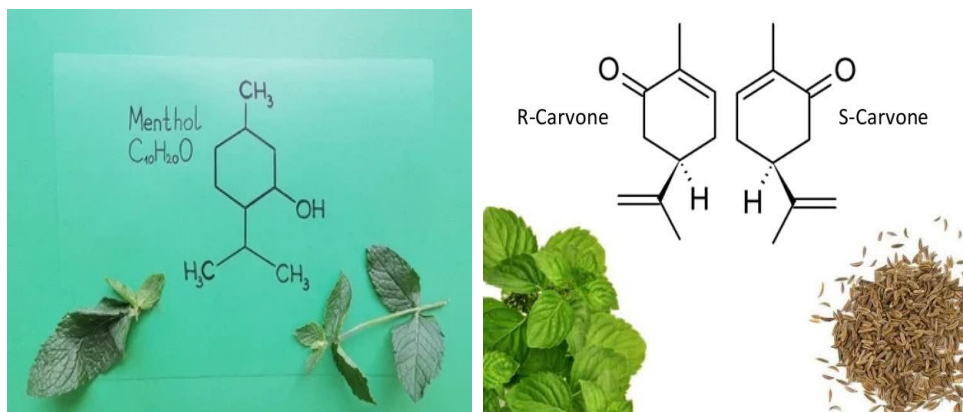
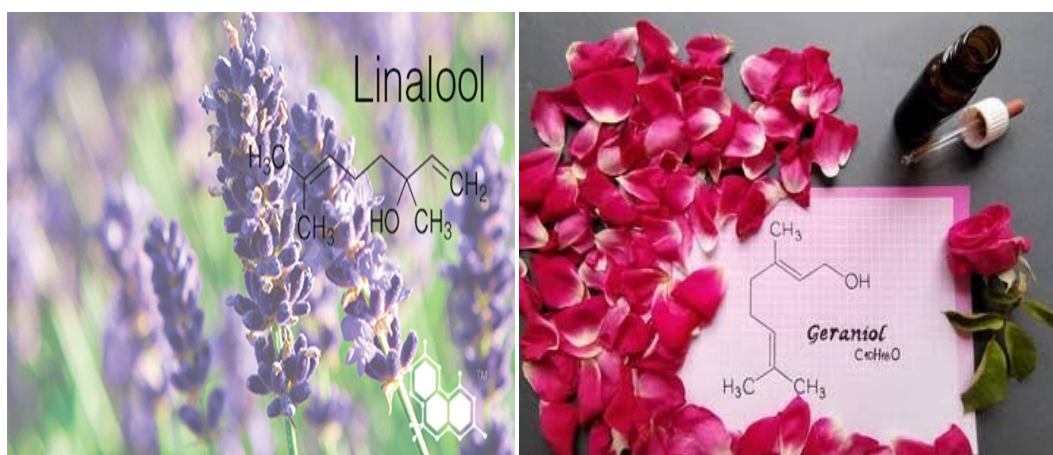


Figure I.6: *Certains cétones des He's*

- ❖ **Alcools:** composés aux propriétés antiseptiques et A-in .Exemples:linalool, géraniol et citronellol.



CITRONELLOL
 $C_{10}H_{20}O$

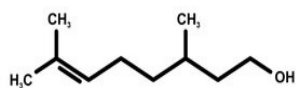


Figure I.7: *Certains Alcools des He's*

- ❖ **Esters:** composés aux propriétés calmantes et sédatives. L'acétate de linalyle et l'acétate de bornyle sont des exemples.

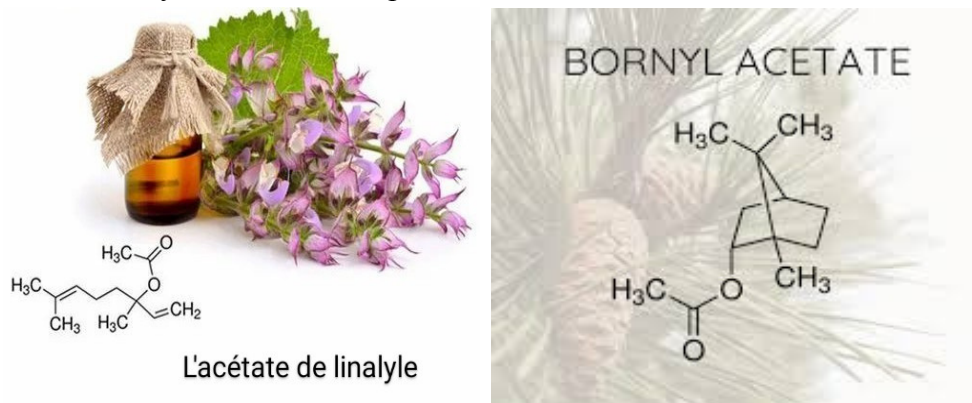


Figure I.8: *Certains Esters des He's*

- ❖ **Aldéhydes:** composés ayant des propriétés antimicrobiennes et antifongiques. Citons par exemple le citral, le benzaldéhyde et le cinnamaldéhyde.

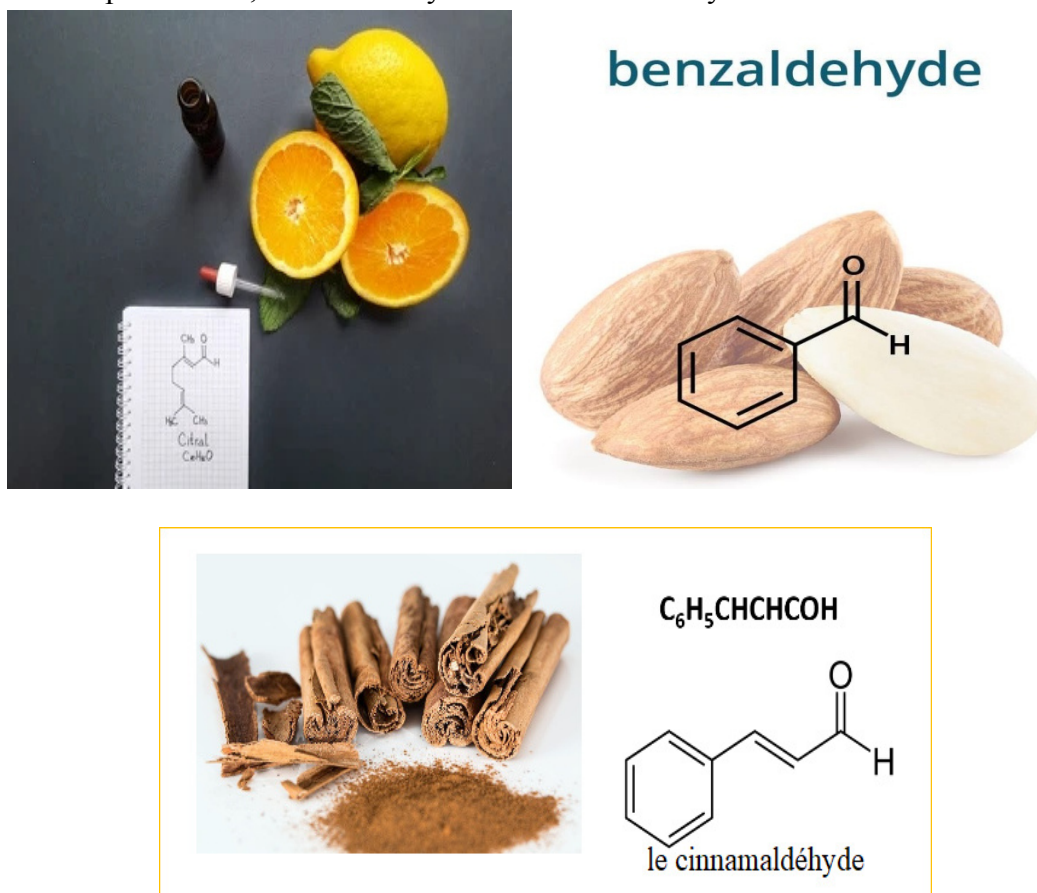


Figure I.9: *Certains Aldéhydes des He's*

- ❖ **Phénols:** ces composés ont de puissantes propriétés antiseptiques et antifongiques. L'eugénol, le thymol et le carvacrol en sont des exemples.

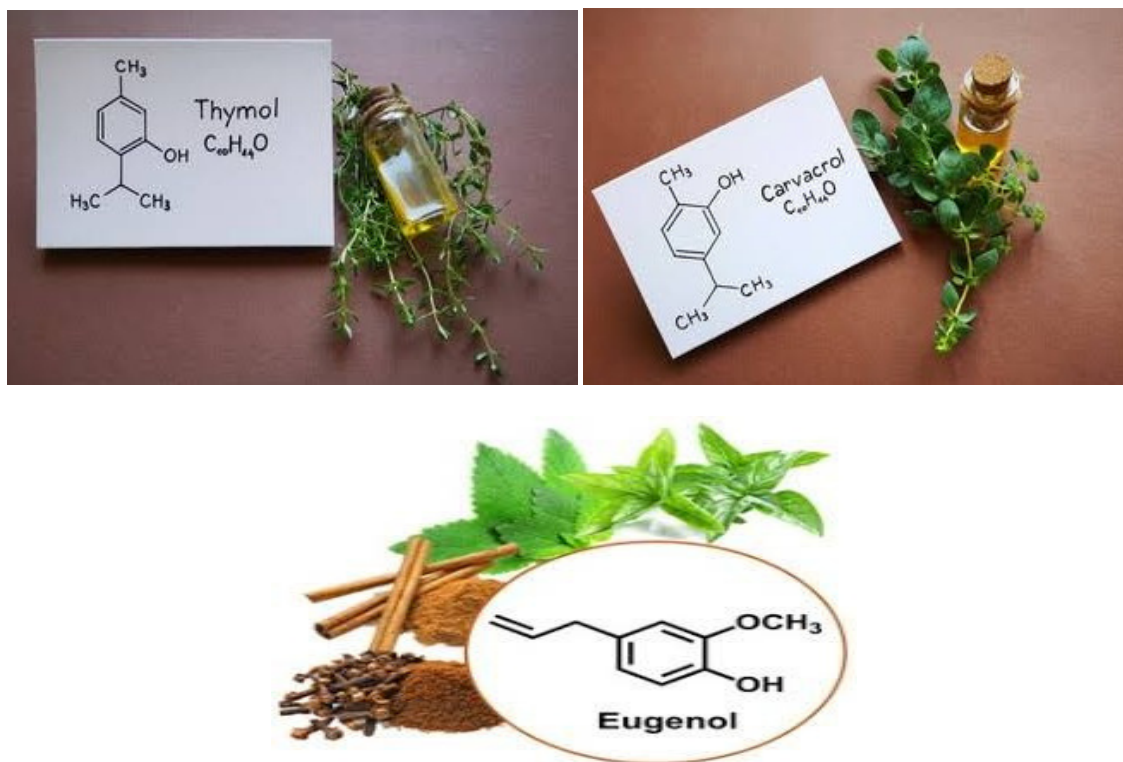


Figure I.10: *Certains Phénols des He's*

- ✓ La composition chimique des He's peut avoir différents effets sur le corps et l'esprit. Les He's sont souvent utilisées en aromathérapie pour leurs propriétés thérapeutiques [2].

I.8. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

I.8.1. L'hydro-distillation

L'hydrodistillation est une méthode d'extraction des He's qui utilise la vapeur pour libérer les composés aromatiques des plantes. Elle consiste à placer les plantes dans un alambic avec de l'eau, à chauffer l'eau jusqu'à ébullition pour créer de la vapeur qui se mélange aux composés aromatiques de la plante, à faire passer la vapeur aromatique dans un tuyau en spirale appelé serpentin pour la refroidir et la condenser en un liquide, et enfin à recueillir ce liquide dans un récipient et à le séparer de l'eau pour obtenir l'He.

Cette méthode est couramment utilisée pour extraire les He's, bien qu'elle puisse varier en fonction de la plante et de la partie de la plante utilisée. Par exemple, pour les agrumes, la méthode d'extraction par expression à froid est souvent utilisée, alors que pour les plantes fragiles, la méthode d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau peut être préférée [10].

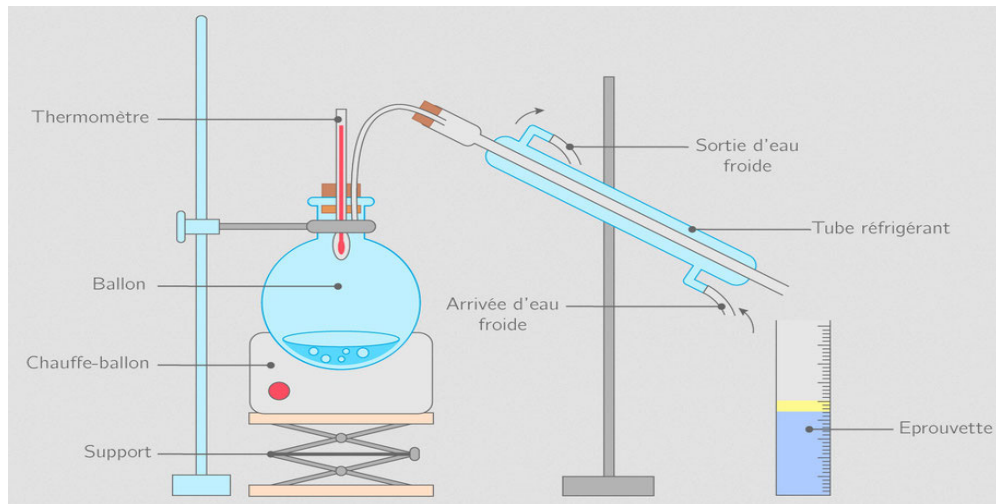


Figure I.11: Schéma d'hydro-distillation

I.8.2. L'entraînement à la vapeur d'eau

L'entraînement à la vapeur d'eau est une méthode d'extraction des He's qui utilise la vapeur pour libérer les composés aromatiques des plantes. Elle consiste à placer les plantes dans une chambre d'entraînement et à faire passer de la vapeur à travers la chambre. La vapeur entraîne les composés aromatiques de la plante, qui sont ensuite condensés en un liquide dans un récipient. L'He est ensuite séparée de l'eau.

Cette méthode d'extraction est couramment utilisée pour les plantes à faible teneur en He et pour les plantes trop fragiles pour supporter l'hydrodistillation [11].

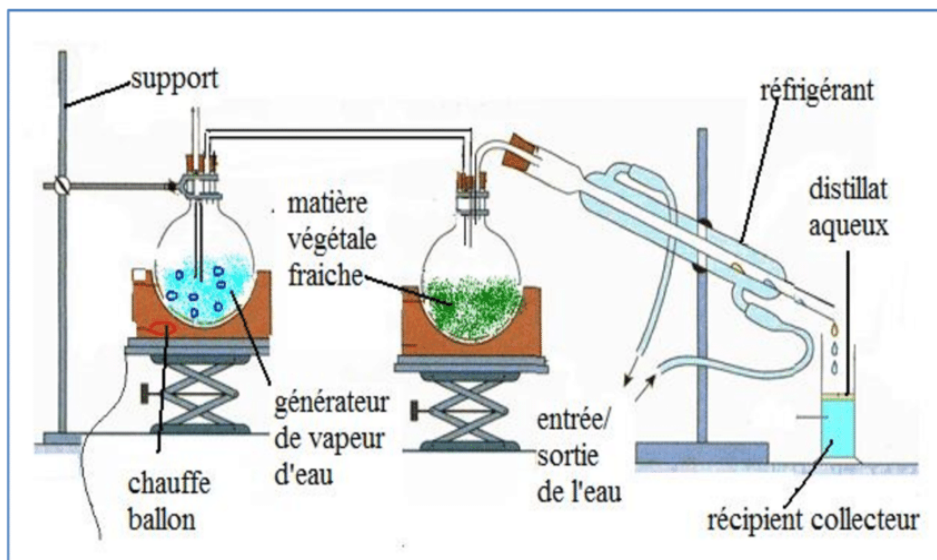


Figure I.12: Schéma d'entraînement à la vapeur d'eau

I.8.3. L'hydrodiffusion

L'hydrodiffusion est une méthode d'extraction des He's qui utilise l'eau comme solvant pour extraire les composés aromatiques des plantes. Elle consiste à placer des plantes dans un réservoir contenant de l'eau, à chauffer l'eau jusqu'à ce qu'elle se vaporise et à la faire passer à travers les plantes pour en extraire les composés aromatiques. La vapeur d'eau chargée d'He est ensuite refroidie pour condenser les composés aromatiques en un liquide. Cette méthode d'extraction est principalement utilisée pour les plantes riches en He's, telles que le cumin, le carvi, le fenouil et l'anis.

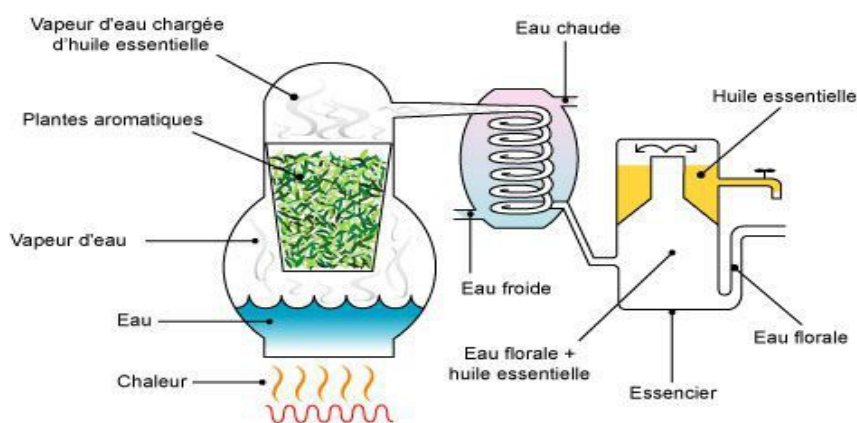


Figure I.13: Schéma d'hydrodiffusion

I.8.4. L'extraction par expression

L'extraction par expression est une méthode d'extraction des He's utilisée pour extraire les He's des agrumes tels que les oranges, les citrons, les pamplemousses et les mandarines. Cette méthode consiste à presser le fruit pour en extraire l'He. Dans cette méthode d'extraction, la peau du fruit est râpée ou coupée en petits morceaux, puis pressée pour en extraire l'He. Le jus est ensuite séparé de l'He à l'aide d'une centrifugeuse ou d'un processus de décantation. Cette méthode d'extraction est considérée comme simple et économique, car elle ne nécessite pas de solvants chimiques ni de procédés de chauffage [12].

I.8.5. L'extraction par solvant

L'extraction par solvant est une méthode d'extraction des He's qui utilise des solvants chimiques pour extraire les composants aromatiques des plantes. Cette méthode est généralement utilisée pour extraire les He's des plantes qui contiennent des quantités relativement faibles d'He, comme la rose, le jasmin et le muguet. Dans cette méthode d'extraction, les plantes sont placées dans un récipient et recouvertes d'un solvant tel que l'éthanol ou l'hexane. Le solvant dissout les composés aromatiques de la plante pour former une solution concentrée d'He. Cette solution est ensuite traitée pour éliminer le solvant et isoler l'He pure. Bien que cette méthode d'extraction soit efficace pour extraire les He's des plantes, elle peut entraîner la présence de résidus de solvant dans l'He, ce qui peut nuire à la qualité du produit final [13].

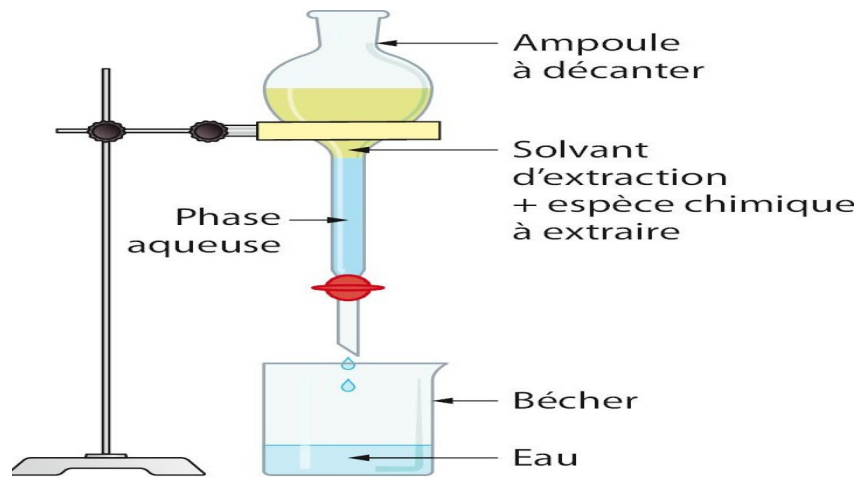


Figure I.14: Schéma d'extraction par solvant

I.8.6. L'extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une méthode relativement nouvelle d'extraction des He's qui utilise les micro-ondes pour chauffer les plantes et faciliter l'extraction des He's. Cette méthode est considérée comme une alternative plus rapide et plus efficace aux méthodes d'extraction traditionnelles telles que l'hydrodistillation et l'extraction par solvant.

Dans cette méthode, les plantes sont placées dans un réacteur et chauffées à l'aide de micro-ondes. L'augmentation de la température facilite la libération des He's des cellules de la plante. Les He's sont ensuite récupérées à l'aide des méthodes d'extraction traditionnelles telles que la distillation ou l'extraction par solvant.

Cette méthode d'extraction présente certains avantages par rapport aux méthodes traditionnelles, tels que le temps d'extraction plus courts et une augmentation de la quantité d'He extraite. Cependant, elle peut également entraîner des modifications de la composition chimique de l'He, ce qui peut nuire à sa qualité [14].

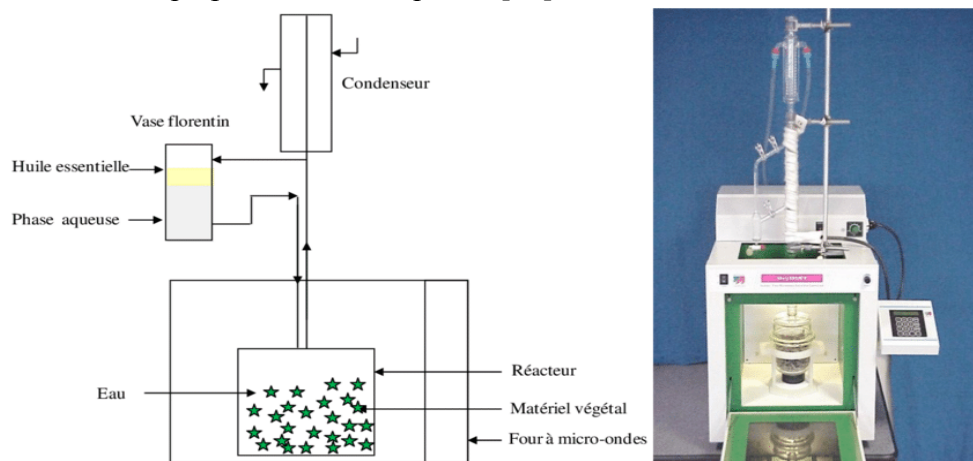


Figure I.15: Schéma d'extraction assistée par micro-ondes

I.8.7. L'extraction par CO₂ super critique

L'extraction des He's par CO₂ supercritique est une méthode d'extraction avancée qui utilise le dioxyde de carbone supercritique pour extraire les He's des plantes. Cette méthode présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes d'extraction traditionnelles telles que la distillation à la vapeur ou l'extraction par solvant.

Tout d'abord, l'extraction par CO₂ supercritique est considérée comme plus sûre et plus respectueuse de l'environnement que les autres méthodes, car le CO₂ est un gaz non toxique et ininflammable. En outre, cette méthode permet d'obtenir des extraits de haute qualité, exempts de contaminants et de résidus de solvants.

Pour réaliser l'extraction par CO₂ supercritique, un équipement spécialisé est utilisé pour comprimer le CO₂ jusqu'à ce qu'il atteigne un état supercritique. Dans cet état, le CO₂ possède des propriétés physiques uniques qui lui permettent de se comporter à la fois comme un gaz et comme un liquide. Il peut ainsi pénétrer dans les cellules des plantes et dissoudre les composés volatils contenus dans les He's .

De nombreuses études ont été menées sur l'extraction par CO₂ supercritique et ont démontré son efficacité pour extraire des He's de haute qualité à partir d'une variété de plantes. Par exemple, une étude publiée dans le "Journal of Food Science and Technology" a comparé l'efficacité de l'extraction par CO₂ supercritique à celle de la distillation à la vapeur d'eau pour extraire des He's de romarin. Les résultats ont montré que l'extraction par CO₂ supercritique produisait des extraits de meilleure qualité avec une teneur plus élevée en composés antioxydants.

En résumé, l'extraction d'huiles essentielles par CO₂ supercritique est une méthode d'extraction avancée et efficace qui présente de nombreux avantages par rapport aux méthodes d'extraction traditionnelles. Cette méthode est de plus en plus utilisée dans l'industrie des He's et des parfums pour produire des extraits de haute qualité [15].

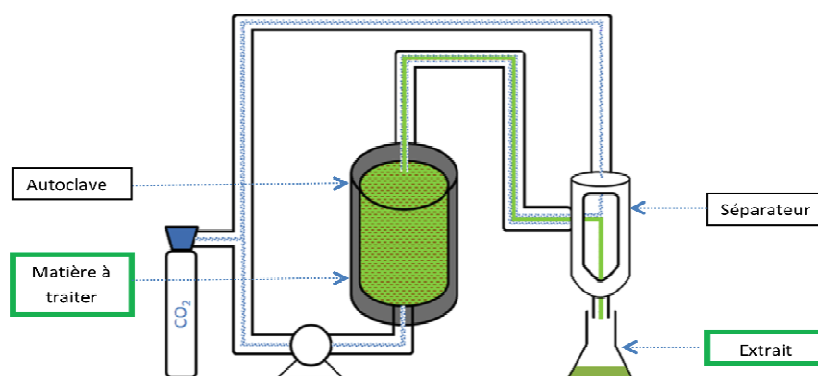


Figure I.16: Schéma d'extraction par CO₂ super critique

I.9. Références

- [1] National Association for Holistic Aromatherapy. (n.d.). Aromatherapy: Overview of essential oils. Récupéré le 20 mars 2023, à partir de <https://naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/overview-of-essential-oils/>
- [2] Tisserand, R., & Young, R. (2014). Essential oil safety: a guide for health care professionals (2nd ed.). Churchill Livingstone Elsevier.
- [3] International Organization for Standardization. (2009), ISO 4720: Essential oils — Nomenclature. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:9235:ed-3:v1:fr>
- [4] National Association for Holistic Aromatherapy. (n.d.). What Are Essential Oils? <https://naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-are-essential-oils/>
- [5] ANSM. (2013), Définition des huiles essentielles [Definition of essential oils]. Retrieved from [https://www.ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Definition-des-huiles-essentielles/\(offset\)/0](https://www.ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Definition-des-huiles-essentielles/(offset)/0)
- [6] Mishra, A. K., Mishra, A., & Chattopadhyay, P. (2011), History and evolution of essential oils: A review. *Complementary therapies in clinical practice*, 17(4), 201-206.
- [7] Koulivand, P. H., Ghadiri, M. K., & Gorji, A. (2013), Lavender and the nervous system. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2013, 681304.
- [8] Petersen, D. (2019), *Aromatherapy Materia Medica: Essential Oil Monographs*. East Ivanhoe, Victoria, Australia: Australian College of Aromatherapy.
- [9] Thèse de doctoral, (2012), la qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité, université de Lorraine. Page 24.
- [10] Encyclopedia Britannica. (s.d.). Steam distillation. Récupéré le 20 mars 2023, de <https://www.britannica.com/science/steam-distillation>.
- [11] Encyclopedia Britannica. (s.d.). Essential oil. Récupéré le 20 mars 2023, de <https://www.britannica.com/science/essential-oil>.
- [12] Guenther, E. (1950), *The Essential Oils* (Vol. 1). D. Van Nostrand Company.
- [13] Baser, K. H. C., & Buchbauer, G. (2010), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications*. CRC press.
- [14] Farhat, A., Fabiano-Tixier, A. S., Lévêque-Sanchez, C., Wajsman, J., Aubert, C., and Chemat, F. (2017), Microwave-assisted extraction of essential oils. *Comptes Rendus Chimie*, 20(5), 612-625.
- [15] Singh, R. P., & Singh, P. K. (2017). Supercritical fluid extraction (SFE) of essential oils and aromas from plant material—A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(10), 2124-2138.



Chapitre II

II. Les métabolites secondaires des familles rutacées, myrtacées, astéracées et apiacées

II.1.Introduction

Les plantes *Citrus aurantium* “Ca” et *Syzygium aromaticum* “Sa”, également connues sous les noms d'oranger amer et de girofle respectivement, sont des exemples remarquables de la diversité des plantes et de leur utilité dans divers domaines. Ces deux plantes sont appréciées pour leurs caractéristiques distinctes, leurs propriétés médicinales et leurs utilisations dans la cuisine et l'industrie.

Ca, ou l'oranger amer, est un arbre fruitier appartenant à la famille des Rutacées. Il est originaire d'Asie du Sud-Est et est largement cultivé dans de nombreuses régions du monde pour ses fruits riches en vitamine C. Les fruits de Ca sont utilisés dans la fabrication de divers produits, notamment des confitures, des liqueurs et des produits cosmétiques. De plus, les fleurs de Ca sont utilisées en phytothérapie pour leurs propriétés apaisantes et aromatiques.

Sa, communément appelé le girofle, est un arbre à feuilles persistantes appartenant à la famille des Myrtacées. Il est originaire des îles Moluques en Indonésie et est principalement cultivé pour ses boutons floraux séchés, connus sous le nom de clous de girofle. Les clous de girofle sont largement utilisés comme épices dans la cuisine pour leur goût distinctif et leur parfum agréable. En plus de leur utilisation culinaire, les clous de girofle ont également été utilisés traditionnellement pour leurs propriétés antiseptiques et analgésiques.

Ces deux plantes présentent également des propriétés médicinales intéressantes. Ca est connu pour contenir des composés tels que les flavonoïdes et les huiles essentielles, qui ont montré des effets A-ox, A-in et antimicrobiens. Sa, quant à lui, contient des composés bioactifs tels que l'eugénol, qui présente des propriétés A-ox, antimicrobiennes et analgésiques.

En conclusion, Ca et Sa sont deux plantes précieuses avec des utilisations variées dans la cuisine, la médecine traditionnelle et l'industrie. Leur richesse en composés bioactifs leur confère des propriétés bénéfiques pour la santé, et leur parfum et leur goût uniques les rendent appréciées dans le monde entier.

II.2. La famille des rutacées

Les rutacées sont une famille de plantes à fleurs qui comprend environ 162 genres et plus de 2400 espèces. Ils ont une distribution mondiale, mais se trouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales. Les plantes de cette famille sont caractérisées par des feuilles alternes, simples ou composées, généralement aromatiques, des fleurs souvent parfumées avec des pétales généralement blancs ou jaunes, et des fruits généralement charnus tels que des baies, des capsules de coton ou des agrumes. Les Rutacées comprennent de nombreuses espèces économiquement importantes, notamment des agrumes tels que les oranges, les citrons, les pamplemousses et les citrons verts. La famille comprend également des plantes utilisées en médecine traditionnelle, comme la rue (Rutacées) pour les maux de tête, les douleurs menstruelles et les troubles digestifs [1].



Figure II.1: (a) *Citrus limon* (b) *Citrus aurantium*

II.2.1. L'espèce de *Citrus aurantium*

- Ca, communément appelé orange amère ou bigarade, est une espèce d'agrumes de la famille des Rutacées. Originaires d'Asie tropicale, ils sont cultivés dans de nombreuses régions du monde pour leur écorce amère, utilisée comme condiment dans la cuisine, ainsi que pour ses He's et ses propriétés médicinales.
- C'est un petit arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur de 3 à 10 mètres. Les feuilles sont coriaces, brillantes et vert foncé, tandis que les fleurs blanches sont très parfumées. Les fruits sont des oranges amères sphériques, d'environ 7 à 9 cm de diamètre, à la peau épaisse et à la pulpe très acide.
- En médecine traditionnelle, le Ca est utilisé pour traiter les troubles digestifs, l'insomnie, l'anxiété et l'hypertension artérielle. Les He's extraites des fleurs et des feuilles sont également utilisées en parfumerie et en cosmétique [2].

II.2.2. Métabolites secondaires de *Citrus aurantium*

Ca contient une variété de métabolites secondaires, notamment des flavonoïdes, des coumarines, des acides phénoliques et des He's.

II.2.2.1. Les flavonoïdes

- ❖ Les flavonoïdes sont des composés phénoliques largement répandus dans le règne végétal. Ils ont des propriétés A-ox, A-in , anticancéreuses et antivirales, entre autres. Le Ca est connu pour être riche en flavonoïdes, en particulier en flavanones.
- ❖ Parmi les flavanones présentes dans le Ca, on trouve la naringine, l'hespéridine, la narirutine, la didymine, la poncirine et la rhoifoline. La naringine est le flavonoïde le plus abondant dans le Ca, représentant jusqu'à 90 % de la teneur totale en flavonoïdes dans certaines parties de la plante. Elle est également présente en grandes quantités dans le jus d'orange amère.
- ❖ L'hespéridine est un autre flavonoïde important du Ca, représentant environ 2 à 10 % de la teneur totale en flavonoïdes de la plante. La narirutine, la didymine, la poncirine et la rhoifoline sont également présentes en quantités variables.
- ❖ Les flavonoïdes du Ca ont été étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé, tels que leurs propriétés A-ox, A-in , anti-obésité et antidiabétiques. Ils ont également été étudiés pour leur potentiel thérapeutique dans le traitement de maladies telles que le cancer et les maladies cardiovasculaires [4].

Quelques structures de flavonoïdes: la naringine, la naringénine, la diosmine et l'hespéridine, qui ont des propriétés A-ox et A-in .

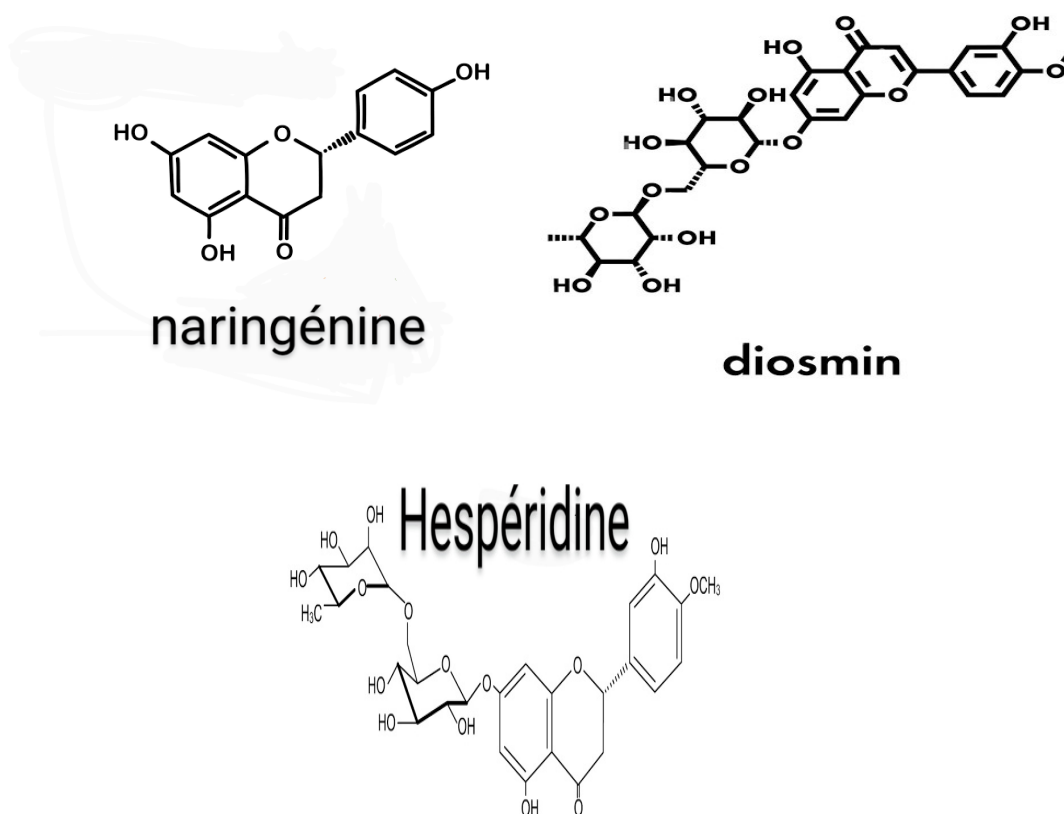


Figure II.2: Structures chimiques de quelques types de flavonoïdes

II.2.2.2. Les coumarines

- ❖ Les coumarines sont une classe de substances phytochimiques que l'on trouve dans de nombreuses plantes, y compris les agrumes comme le Ca. Plusieurs coumarines ont été identifiées dans le Ca, notamment l'osthol, l'imperatorine, la bergamottine, la citroptine, la limettine et l'auraptène.
- ❖ Ces coumarines ont montré une variété d'activités biologiques, telles que des propriétés A-ox, A-in, antimicrobiennes, antifongiques, anticancéreuses et neuroprotectrices. Plusieurs études ont également suggéré que les coumarines pouvaient être bénéfiques pour la santé cardiovasculaire en raison de leur capacité à réduire les taux de cholestérol et de triglycérides dans le sang.
- ❖ Une étude a examiné les effets de l'auraptène sur la fonction endothéliale et la pression artérielle chez des rats hypertendus. Les résultats ont montré que l'auraptène améliorait la fonction endothéliale et réduisait la pression artérielle chez les rats hypertendus.
- ❖ Une autre étude a examiné les effets de l'osthol et de l'imperatorine sur la croissance des cellules cancéreuses dans le cancer du sein. Les résultats ont montré que ces deux coumarines pouvaient inhiber la croissance des cellules cancéreuses du sein en perturbant leur cycle cellulaire.

- ❖ Toutefois, il convient de noter que certaines coumarines peuvent être toxiques à fortes doses. Par exemple, la bergamottine inhibe l'activité d'une importante enzyme hépatique impliquée dans le métabolisme de nombreux médicaments. Cela peut conduire à une accumulation de ces médicaments dans l'organisme, augmentant ainsi le risque d'effets secondaires.
- ❖ En résumé, les coumarines présentes dans le Ca ont montré une variété d'activités biologiques bénéfiques pour la santé, mais il est important de les utiliser avec prudence et de respecter les doses recommandées. La recherche sur ces composés continue d'évoluer afin de mieux comprendre leur potentiel en tant que traitement ou prévention de diverses maladies [5].

Quelques exemples des coumarines: la scoparone, le bergaptène et le psoralène, qui peuvent avoir des propriétés A-ox et A-in .

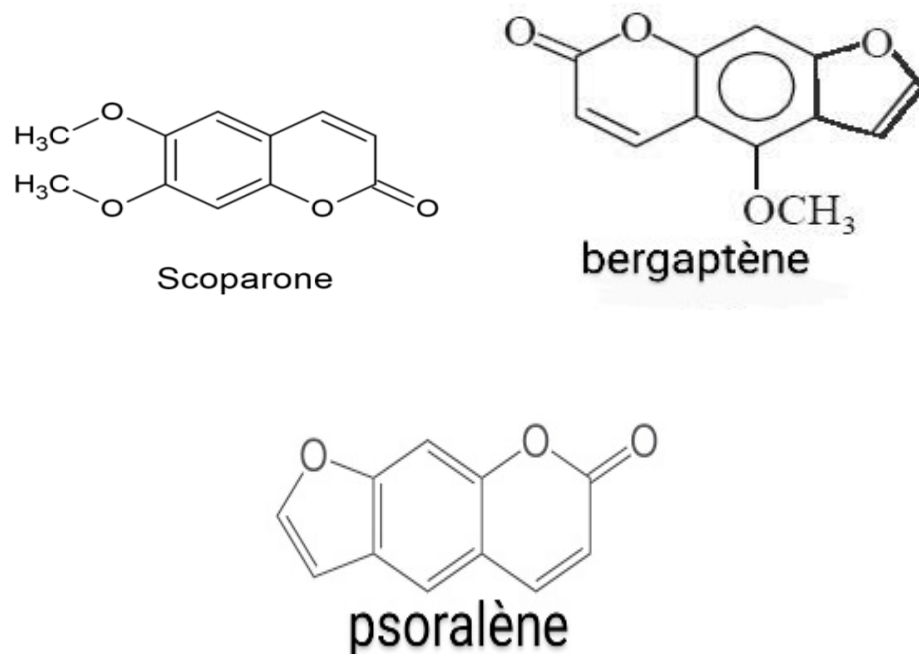


Figure II.3: Structures chimiques de quelques types de coumarines

II.2.2.3. Les acides phénoliques

- ❖ Le Ca est également connu pour sa richesse en acides phénoliques, des composés végétaux aux propriétés A-ox et A-in . Plusieurs études ont identifié la présence d'acides phénoliques tels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide syringique dans différentes parties du Ca, notamment les fruits, les fleurs et les feuilles.
- ❖ Ces acides phénoliques ont été associés à toute une série de bienfaits pour la santé, notamment la réduction du risque de maladies cardiovasculaires, de diabète de type 2 et de certains cancers. Ils ont également démontré des effets bénéfiques sur la santé

mentale, notamment en améliorant la cognition et en réduisant l'anxiété et la dépression.

- ❖ Une étude de 2015 a examiné l'activité antioxydante et anti-inflammatoire d'extraits de Ca riches en acides phénoliques. Les résultats ont montré que ces extraits étaient capables de réduire les niveaux de stress oxydatif et d'inflammation dans les cellules [6].
- ❖ Les acides phénoliques comprennent l'acide caféique, l'acide chlorogénique et l'acide férulique, qui ont des propriétés A-ox et peuvent contribuer à réduire le risque de maladies chroniques.

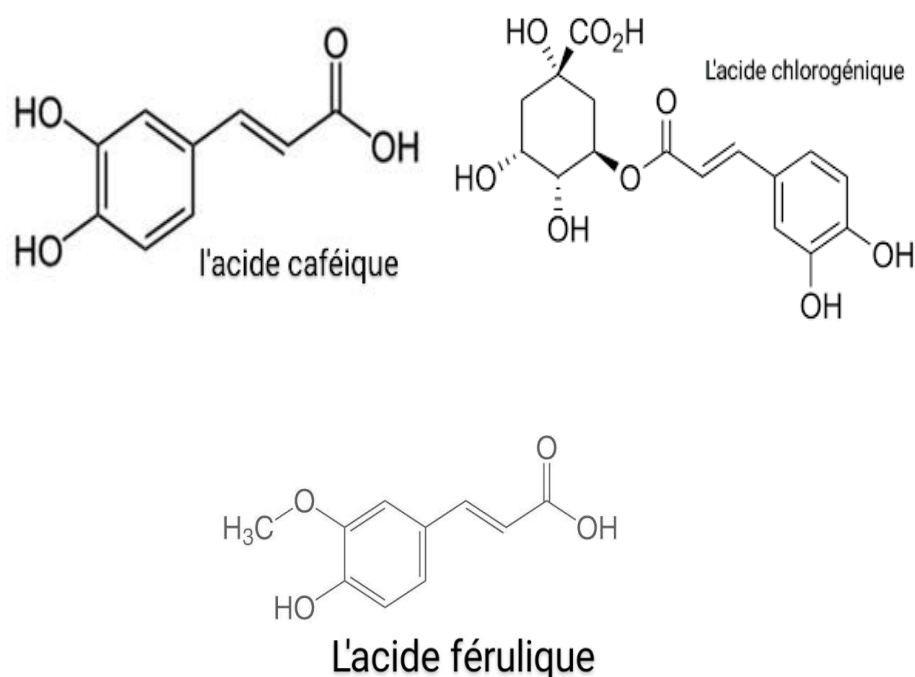


Figure II.4: Structures chimiques de quelques types d'acides phénoliques

II.2.2.4. Les huiles essentielles

- ❖ Le Ca, également connu sous le nom d'orange amère, est une plante qui produit des He's à forte odeur d'agrumes. Les He's de cette plante sont principalement produites dans les glandes situées à la surface des feuilles, des fleurs et des fruits. Les composants des He's varient en fonction de la partie de la plante et de la méthode d'extraction utilisée. Les principaux composants des He's de Ca sont le limonène, le linalol, le myrcène, le β -pinène, l' α -terpinéol et l' α -pinène.
- ❖ Les He's de Ca ont été largement étudiées pour leurs propriétés médicinales. Ces huiles ont montré des effets A-in , A-ox, antimicrobiens et anticancéreux. Outre leurs propriétés médicinales, les He's de Ca sont également utilisées en parfumerie et en aromathérapie [7].
- ❖ Les huiles essentielles sont principalement composées de limonène, de linalol, de myrcène et de citronellal, qui ont des propriétés antibactériennes et antifongiques [3].

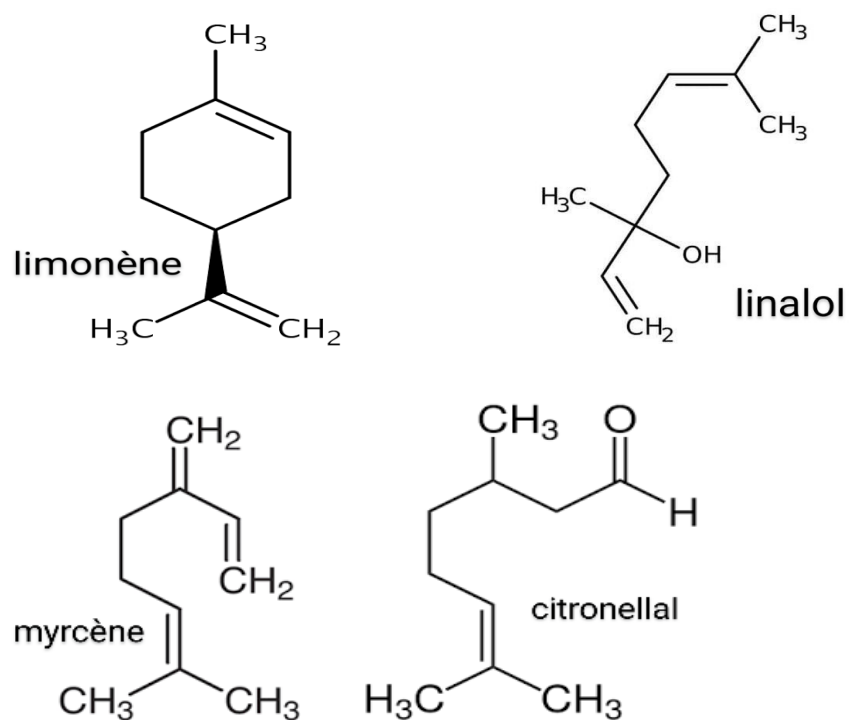


Figure II.5: Structures chimiques de quelques composés d'huile essentielle de *Citrus aurantium*

Le chromatogramme GC/MS d'HE de *Citrus aurantium* var. dulce (Tableau II.1) montre la composition chimique et les indices de rétention calculés (IR) de cette huile.

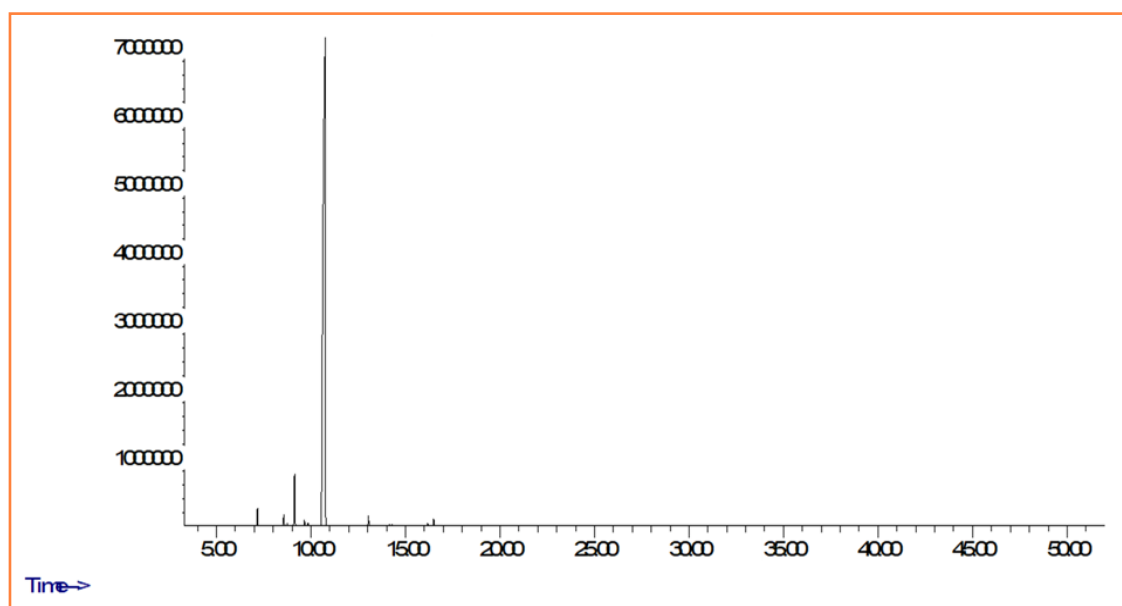


Figure II.6: Chromatogramme GC/MS d'HE de *C. aurantium* var. dulce

Tableau II.1: Composition chimique de l'huile essentielle de *C. aurantium* var. *dulce*, et les indices de rétention calculés (IR)

| No | Composée* | (%) | IR (lit.) | IR (calc.)** |
|------------------|------------------------|-------|-----------|--------------|
| 1 | α -pinene | 1.0 | 939 | 938 |
| 2 | sabinene | 0.7 | 975 | 977 |
| 3 | β -pinene | tr*** | 979 | 981 |
| 4 | β -myrcene | 3.1 | 990 | 991 |
| 5 | octanal | 0.3 | 998 | 1,003 |
| 6 | α -phellandrene | tr | 1,002 | 1,005 |
| 7 | δ -3-carene | tr | 1,011 | 1,011 |
| 8 | limonene | 93.9 | 1,029 | 1,038 |
| 9 | α -terpinolene | 0.5 | 1,088 | 1,100 |
| 10 | cis-limonene oxid | tr | 1,136 | 1,136 |
| 11 | decanal | 0.4 | 1,201 | 1,205 |
| Total (%) | | | 99.9 | |

Par contre la composition chimique d'HE de *Citrus. aurantium amara* est représentée dans le chromatogramme (Figure II.7) et le tableau II.2.

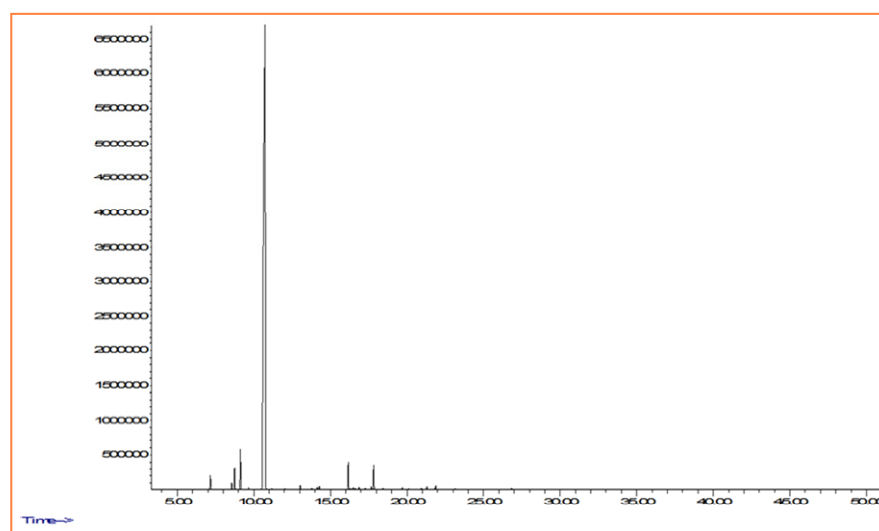


Figure II.7: Chromatogramme GC/MS d'HE de *C. aurantium amara*

Tableau II.2: Composition chimique de l'huile essentielle de *C. aurantium amara*, les indices de rétention calculés (IR).

| No | Composée | % | IR (lit.) | IR (calc.) |
|------------------|-----------------------|-------|--------------|------------|
| 1 | α -pinene | 0.9 | 939 | 938 |
| 2 | sabinene | 0.4 | 975 | 977 |
| 3 | β -pinene | 1.5 | 979 | 981 |
| 4 | β -myrcene | 2.6 | 990 | 991 |
| 5 | octanal | tr*** | 998 | 1,004 |
| 6 | limonene | 90.4 | 1,029 | 1,038 |
| 7 | α -terpinolene | 0.3 | 1,088 | 1,100 |
| 8 | cis-limonene oxid | tr | 1,136 | 1,136 |
| 9 | trans-limonene oxid | 0.2 | 1,142 | 1,140 |
| 10 | α -terpineol | 1.7 | 1,188 | 1,196 |
| 11 | cis-dihydro carvone | tr | 1,192 | 1,199 |
| 12 | decanal | tr | 1,201 | 1,206 |
| 13 | trans-carveol | tr | 1,216 | 1,219 |
| 14 | cis-carveol | tr | 1,229 | 1,232 |
| 15 | neral | tr | 1,238 | 1,238 |
| 16 | carvone | tr | 1,243 | 1,244 |
| 17 | linalool acetate | 1.6 | 1,257 | 1,249 |
| 18 | geranial | tr | 1,267 | 1,268 |
| 19 | neryl acetate | 0.2 | 1,361 | 1,378 |
| 20 | (E)-caryophyllene | tr | 1,419 | 1,422 |
| Total (%) | | | 99.80 | |

II.2.3. L'activité biologique de *Citrus aurantium*

- ❖ Ca est une plante aux nombreuses activités biologiques intéressantes. Les extraits de cette plante ont été étudiés pour leurs effets sur diverses fonctions biologiques, notamment l'activité antioxydante, anti-inflammatoire, antimicrobienne et antitumorale [8].
- ❖ Plusieurs études ont montré que les extraits de Ca possèdent une forte activité antioxydante. Par exemple, une étude menée par Wang et al. (2010) a montré que les extraits de Ca ont une forte capacité à piéger les radicaux libres, ce qui les rend efficaces pour protéger les cellules des dommages oxydatifs.
- ❖ En outre, les extraits de Ca ont également montré une activité anti-inflammatoire. Des études in vitro et in vivo ont montré que les extraits de cette plante ont un effet anti-inflammatoire en inhibant la production de cytokines pro-inflammatoires (Yin et al., 2014) [9].
- ❖ En ce qui concerne l'activité antimicrobienne, plusieurs études ont montré que les extraits de Ca peuvent inhiber la croissance de diverses bactéries et champignons pathogènes. Par exemple, une étude menée par Pan et al. (2015) a montré que les

extraits de Ca ont une activité antimicrobienne contre la bactérie *Staphylococcus aureus* [10].

- ❖ Enfin, plusieurs études ont également montré que les extraits de Ca ont une activité antitumorale potentiellement intéressante. Par exemple, une étude menée par Manthey et Guthrie (2002) a montré que les flavonoïdes présents dans le Ca ont une activité antiproliférative contre six lignées de cellules cancéreuses humaines [11].
 - ✓ En résumé, les études menées sur les extraits de Ca ont montré leur potentiel pour de nombreuses applications thérapeutiques, notamment A-ox, A-in, antimicrobiennes et antitumorales.

II.3. La famille de *Syzygium aromaticum*

La famille de Sa est celle des Myrtacées, également connue sous le nom de famille des myrtes. Cette famille comprend environ 6 000 espèces de plantes à fleurs, principalement des arbres et des arbustes, réparties dans le monde entier, mais surtout dans les régions tropicales et subtropicales. Les membres de cette famille sont connus pour leur utilisation dans la médecine traditionnelle et pour leur importance économique en tant que source de fruits, de bois et d'He's. Les clous de girofle, qui sont les boutons floraux séchés de Sa, sont une épice populaire [12].



Figure II.8: *représente quelques espèces de la famille des Myrtacées*

II.3.1. L'espèce de *Syzygium aromaticum*

- ❖ L'espèce Sa, communément appelée clou de girofle, est une plante à fleurs appartenant à la famille des Myrtacées. Originaires des îles Moluques en Indonésie, le clou de girofle est largement cultivé dans diverses régions tropicales du monde, notamment en Tanzanie, à Madagascar, au Sri Lanka et dans les Antilles.
- ❖ Le giroflier est un arbre à feuilles persistantes qui peut atteindre une hauteur de 10 à 20 mètres. Il se caractérise par des feuilles ovales, brillantes et vert foncé, et des fleurs d'un blanc éclatant qui s'épanouissent en grappes. Toutefois, ce sont les boutons floraux non ouverts, appelés "clous de girofle", qui constituent la partie la plus précieuse de la plante.
- ❖ Les clous de girofle sont de petits boutons floraux récoltés avant leur éclosion complète. Ils ont une forme allongée et une couleur brune intense. Ils sont récoltés à la main et séchés au soleil jusqu'à ce qu'ils atteignent une texture dure et cassante. Les clous de girofle séchés ont un arôme fort et piquant et une saveur chaude et sucrée. Ils sont utilisés depuis des siècles dans la cuisine, la médecine traditionnelle et l'industrie du parfum.
- ❖ Le clou de girofle est largement utilisé comme épice dans de nombreuses cuisines du monde. Il est particulièrement apprécié dans les plats sucrés et salés tels que les currys, les desserts, les marinades et les boissons chaudes comme le vin chaud. Son arôme distinctif et son goût unique ajoutent de la profondeur aux préparations culinaires.
- ❖ Outre son utilisation en cuisine, le clou de girofle possède également des propriétés médicinales. Il est connu pour ses effets A-ox, analgésiques, antimicrobiens et A-in . L'He extraite du clou de girofle est utilisée en aromathérapie pour soulager les douleurs dentaires, les problèmes digestifs, les infections et les douleurs musculaires [13].



Figure II.9: *Espèce de Syzygium aromaticum*

II.3.2. Métabolites secondaires du *Syzygium aromaticum*

Les clous de girofle, de l'espèce Sa, contiennent une variété de métabolites secondaires qui contribuent à leurs propriétés aromatiques et médicinales. Les métabolites secondaires les plus importants présents dans les clous de girofle sont les suivants :

- ❖ **L'eugénol:** Il s'agit du composé le plus abondant dans les clous de girofle, représentant généralement 70 à 90 % de l'He extraite. L'eugénol confère aux clous de girofle leur arôme distinctif et leur saveur piquante. Il possède également des propriétés A-ox, antimicrobiennes, A-in et analgésiques.
- ❖ **L'acétate d'eugényle:** Il s'agit d'un ester dérivé de l'eugénol, présent en quantités importantes dans les clous de girofle. Il contribue à l'arôme caractéristique des clous de girofle et possède des propriétés antimicrobiennes et antifongiques.
- ❖ **β -Caryophyllène:** Il s'agit d'un sesquiterpène présent dans les clous de girofle. Le β -caryophyllène a des propriétés A-in et analgésiques. Il se lie également aux récepteurs cannabinoïdes, ce qui lui confère des effets potentiels dans la modulation du système endocannabinoïde.
- ❖ **α -Humulène:** Il s'agit d'un autre sesquiterpène présent dans les clous de girofle. L' α -humulène a des propriétés A-in , analgésiques et antibactériennes.
- ❖ **Acide gallique:** Il s'agit d'un acide phénolique présent dans les clous de girofle. L'acide gallique a des propriétés A-ox et A-in , et est également étudié pour ses effets anticancéreux potentiels.
- ❖ **L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*:** extraite des clous de girofle, est riche en métabolites secondaires bénéfiques pour la santé. Parmi ces métabolites, l'eugénol est le principal composé présent dans l'He de clou de girofle, lui conférant son arôme distinctif et ses propriétés thérapeutiques. L'eugénol possède des propriétés A-ox, A-in , antimicrobiennes et analgésiques. Ces propriétés en font un composé clé dans l'utilisation traditionnelle et contemporaine de l' He de clou de girofle pour soulager la douleur, l'inflammation, les infections et promouvoir une meilleure santé générale.
 - ✓ Ces métabolites secondaires confèrent aux clous de girofle leurs caractéristiques aromatiques et leurs effets bénéfiques sur la santé. Leur présence dans les clous de girofle a été étudiée pour leurs effets antimicrobiens, A-in , analgésiques et antioxydants [14].

II.3.2.1. L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*

- ❖ L'He de Sa, communément appelée huile de girofle, est extraite des bourgeons floraux séchés de l'arbre Sa. Cette He est utilisée depuis des siècles dans diverses cultures pour ses propriétés thérapeutiques et son arôme caractéristique. Elle contient une combinaison de composés bioactifs qui lui confèrent de nombreux avantages pour la santé.
- ❖ L'un des principaux composés présents dans l'He de clou de girofle est l'eugénol, qui représente généralement entre 70 et 90 % de sa composition. L'eugénol est un phénol

qui possède de puissantes propriétés A-ox, A-in , antibactériennes et antifongiques. Ces propriétés lui permettent de lutter contre les radicaux libres, de réduire l'inflammation, de prévenir les infections bactériennes et fongiques et de promouvoir la santé en général.

- ❖ L'He de clou de girofle possède également des propriétés analgésiques. L'eugénol contenu dans l'huile peut aider à soulager la douleur, notamment les maux de dents, les douleurs musculaires et articulaires et les maux de tête. Il peut également aider à apaiser la douleur associée à l'inflammation.
- ❖ Outre l'eugénol, l'He de clou de girofle contient d'autres composés bénéfiques tels que l'acétate d'eugényle, le β -caryophyllène et l' α -humulène. Ces composés ont également des propriétés antimicrobiennes, A-in et analgésiques, ce qui renforce les effets thérapeutiques de l'He.
- L'utilisation de l'He de clou de girofle peut varier en fonction des besoins et des préférences de chacun. Elle peut être utilisée en aromathérapie, diluée dans une huile de support pour le massage, ajoutée à des produits de soins personnels ou utilisée comme inhalant pour ses effets bénéfiques sur le système respiratoire.
- ✓ Il est important de noter que l'He de clou de girofle est très concentrée et doit être utilisée avec prudence. Il est recommandé de consulter un professionnel de la santé qualifié avant de l'utiliser, en particulier pour les femmes enceintes, les personnes ayant des problèmes de santé sous-jacents ou celles qui prennent des médicaments [15].

Tableau II.3 : Les résultats de l'analyse par Chromatographie gazeuse de l'HE du clou de girofle [16].

| composée | Min | pourcentage |
|------------------------|---------------|-------------|
| Eugénol | [44,23-45,28] | 84.01 |
| α - pinène | 14 ,23 | 0.84 |
| camphène | 15 ,10 | 0.103 |
| sabinène | 16 ,66 | 0.025 |
| β -pinène | 16 ,85 | 0.044 |
| myricene | 17 ,82 | 0.18 |
| limonène | 20 ,02 | 0.16 |
| cinéule | 20 ,54 | 0.054 |
| γ -terpinene | 22 ,45 | 0.068 |
| linalool | 25 ,41 | 0.63 |
| camphre | 28 ,56 | 0.35 |
| α -téropéneol | 32 ,15 | 0.31 |
| β -caryophyllène | 48 ,25 | 0.67 |
| acétate d'eugényle | 55 ,46 | 13.01 |

II.3.3. L'activité biologique de *Syzygium aromaticum*

Sa, également connu sous le nom de clou de girofle, est une plante qui présente de nombreux avantages biologiques pour la santé. Ses différentes parties, notamment les gousses florales, les feuilles et l'écorce, sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés médicinales. Voici un aperçu des principales activités biologiques du Sa, étayées par des études scientifiques.

- ❖ **Activité antioxydante** : Le Sa possède une forte activité antioxydante due à la présence de composés phénoliques tels que l'eugénol. Les antioxydants aident à neutraliser les radicaux libres, réduisant ainsi les dommages oxydatifs et le stress oxydatif dans l'organisme.
- ❖ **Activité anti-inflammatoire** : Il a été démontré que les extraits de Sa des propriétés A-in , inhibant les médiateurs inflammatoires et réduisant les réponses inflammatoires dans l'organisme. Ces propriétés peuvent être bénéfiques pour soulager l'inflammation chronique et les affections associées telles que l'arthrite.
- ❖ **Activité antimicrobienne** : Les extraits de Sa ont montré une activité antimicrobienne contre diverses bactéries, levures et champignons. L'He de clou de girofle, en particulier, présente une activité inhibitrice contre certaines souches bactériennes pathogènes, ce qui suggère son potentiel en tant qu'agent antimicrobien naturel.
- ❖ **Activité analgésique** : Les clous de girofle sont traditionnellement utilisés pour soulager la douleur et des études ont confirmé leur activité analgésique. L'eugénol présent dans le Sa serait responsable de ces effets analgésiques, soulageant divers types de douleurs, y compris les maux de dents et les douleurs musculaires.
- ❖ **Activité antidiabétique** : Des recherches ont montré que Sa peut aider à contrôler le taux de sucre dans le sang chez les diabétiques. Certains composés de la plante, comme les tanins, peuvent contribuer à réguler le métabolisme du glucose et à améliorer la sensibilité à l'insuline.
 - ✓ Ces activités biologiques du Sa peuvent être attribuées à la présence de divers composés phytochimiques tels que l'eugénol, les flavonoïdes, les tanins et les terpénoïdes [17].

II.4. La famille des Astéracées

Les Astéracées sont une famille de plantes à fleurs caractérisée par des inflorescences composées, appelées capitules, qui ressemblent à une seule fleur. Chaque capitule est composé de fleurs individuelles, souvent entourées de bractées, formant une structure globulaire ou en forme de disque. Les membres de cette famille présentent une grande diversité de formes et de tailles, allant des petites fleurs herbacées aux grands arbres [18].

II.4.1. Définition de la plante *Artemisia herba-alba* Asso

- *Artemisia herba-alba* Asso est une plante herbacée vivace appartenant à la famille des Astéracées. Elle est également connue sous les noms communs d'Armoise blanche, d'Armoise marocaine ou d'Armoise blanche d'Afrique du Nord. Cette plante est largement répandue dans les régions désertiques et semi-désertiques d'Afrique du Nord, notamment au Maroc, en Algérie, en Tunisie et en Libye.
- La description botanique d'*Artemisia herba-alba* Asso se caractérise par une taille pouvant atteindre jusqu'à un mètre de hauteur, avec des feuilles argentées, lobées et dentées, qui sont recouvertes d'un duvet fin. Les tiges de la plante sont ligneuses à la base et se ramifient au sommet. Les fleurs sont petites et regroupées en inflorescences en forme de panicules, de couleur jaune pâle à blanc crème.
- Cette plante est utilisée depuis longtemps dans les pratiques traditionnelles de médecine populaire. Les parties utilisées de l'*Artemisia herba-alba* Asso comprennent principalement les feuilles, les sommités fleuries et les He's extraites de la plante.
- *Artemisia herba-alba* Asso est réputée pour ses propriétés médicinales, notamment ses effets A-in, antioxydants, antimicrobiens et analgésiques. Elle est également connue pour ses propriétés antiparasitaires et antifongiques. Certaines études scientifiques ont suggéré que cette plante pourrait avoir des effets bénéfiques dans le traitement de certaines maladies, telles que les infections, les troubles gastro-intestinaux, les affections cutanées et les problèmes respiratoires. Cependant, il est important de noter que davantage de recherches sont nécessaires pour confirmer ces effets et déterminer les doses appropriées et les précautions d'utilisation [19].

II.4.2. Métabolites secondaires d' *Artemisia herba-alba* Asso

Artemisia herba-alba Asso est une espèce végétale qui contient divers métabolites secondaires. Les plus importants de ces métabolites sont les lactones sesquiterpènes [20]. L'huile essentielle d'*A. herba-alba* Asso a été étudiée et contient divers composés, notamment des monoterpénoïdes de menthane, des oxanes et des cumènes [21]. D'autres études ont identifié la présence de lactones sesquiterpéniques et de flavonoïdes dans les parties aériennes de la plante [22]. Le verbénol, un monoterpène, a également été identifié comme l'un des principaux constituants volatils d'*A. herba-alba* Asso [23]. En outre, *A. herba-alba* Asso contient des quantités considérables de *p*-cymène, ce qui n'avait pas été trouvé auparavant dans cette espèce [24]. En outre, les infusions aqueuses des parties aériennes d'*A. herba-alba* Asso ont été examinées pour leur efficacité antidiabétique chez les rats diabétiques induits par l'alloxan [25].

II.5. La famille des Apiacées

La famille des apiaceae, également connue sous le nom de famille des Ombellifères, est une famille de plantes à fleurs qui comprend de nombreuses espèces d'herbes, de légumes et de plantes aromatiques. Les Apiaceae se caractérisent par des inflorescences en ombelle, où les fleurs sont regroupées en grappes en forme d'ombrelle.

Les plantes de la famille des Apiaceae sont souvent reconnaissables par leurs feuilles finement divisées et leurs tiges creuses. Elles produisent souvent des huiles essentielles avec des arômes distinctifs. Certaines espèces de cette famille sont largement utilisées en cuisine et en médecine traditionnelle pour leurs propriétés aromatiques et médicinales [26].

II.5.1. Le métabolisme secondaire de *Petroselinum crispum*

Le métabolisme secondaire de *Petroselinum crispum*, communément connu sous le nom de persil, comprend une variété de composés bioactifs, notamment des huiles essentielles, des flavonoïdes, des terpénoïdes et des composés phénoliques.

Les huiles essentielles de persil, principalement présentes dans les parties aériennes de la plante, contiennent des composés tels que le myristicine, l'apiol et le limonène, qui contribuent à leur arôme caractéristique.

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux qui confèrent des couleurs vives aux plantes. Le persil contient divers flavonoïdes tels que l'apigénine, la lutéoline et l'apiine, qui ont montré des activités antioxydantes et anti-inflammatoires potentielles.

Les terpénoïdes, notamment les monoterpènes et les sesquiterpènes, sont également présents dans le persil et contribuent à son parfum et à ses propriétés pharmacologiques.

Les composés phénoliques, tels que l'acide caféique, l'acide chlorogénique et l'apioside, sont des antioxydants puissants présents dans le persil. Ils sont associés à des effets bénéfiques sur la santé, tels que des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes [27].

II.6. Les vitamines

- Les vitamines sont des composés organiques essentiels nécessaires en petites quantités pour maintenir la santé et le fonctionnement optimal du corps humain. Elles jouent un rôle crucial dans de nombreuses réactions métaboliques et sont nécessaires à la croissance, au développement et au maintien de la santé générale. Les vitamines ne sont pas synthétisées en quantités suffisantes par l'organisme et doivent donc être obtenues par l'alimentation ou, dans certains cas, par des suppléments.
- Il existe plusieurs classifications de vitamines, qui sont souvent regroupées en deux catégories principales : les vitamines liposolubles et les vitamines hydrosolubles.
- Les vitamines liposolubles (vitamine A, vitamine D, vitamine E et vitamine K) se dissolvent dans les graisses et sont stockées dans le corps. Elles sont principalement présentes dans les aliments d'origine animale et végétale contenant des matières grasses. Ces vitamines jouent un rôle important dans la vision, la croissance cellulaire, la fonction immunitaire, la coagulation sanguine et la protection des membranes cellulaires.
- Les vitamines hydrosolubles (vitamine C et les vitamines du complexe B, telles que la vitamine B1, la vitamine B2, la vitamine B3, la vitamine B5, la vitamine B6, la vitamine B7, la vitamine B9 et la vitamine B12) se dissolvent dans l'eau et ne sont pas stockées en grandes quantités dans l'organisme. Elles sont principalement présentes dans les fruits, les légumes, les céréales complètes, les légumineuses et les produits animaux. Ces vitamines jouent un rôle essentiel dans le métabolisme énergétique, la

production de globules rouges, le fonctionnement du système nerveux, la synthèse des neurotransmetteurs, la santé de la peau, la fonction immunitaire et bien d'autres processus biologiques.

- ✓ Il convient de noter que chaque vitamine a des fonctions spécifiques et interagit avec d'autres nutriments dans le corps. Les carences en vitamines peuvent entraîner des troubles de la santé, tandis que des apports adéquats en vitamines contribuent à maintenir un état de santé optimal [28].

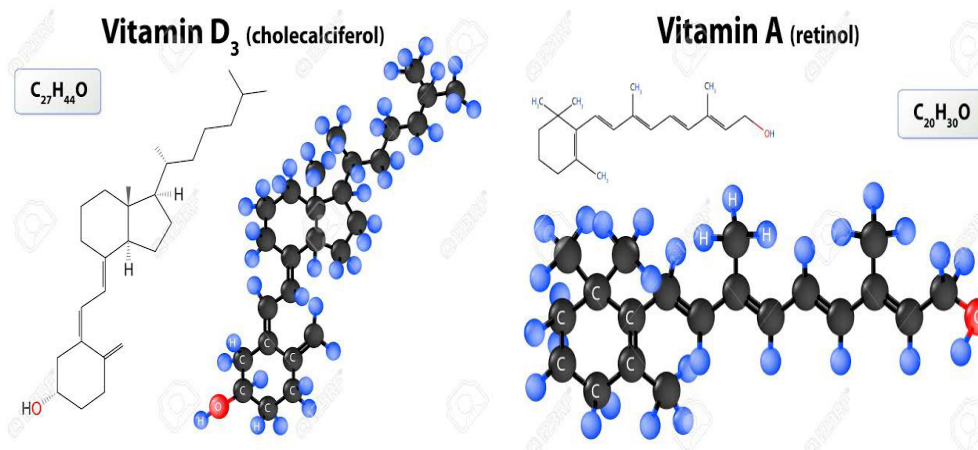


Figure II.10: Représente les deux vitaminé A et D₃.

II.6.1. La vitamine C

- La vitamine C, également connue sous le nom d'acide ascorbique, est une vitamine hydrosoluble essentielle pour le corps humain. Elle joue un rôle crucial dans de nombreuses fonctions biologiques et est nécessaire à la croissance, au développement et au maintien de la santé.
- La vitamine C est un puissant antioxydant qui aide à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Elle est impliquée dans la synthèse du collagène, une protéine importante pour la structure et la santé de la peau, des os, des vaisseaux sanguins et d'autres tissus conjonctifs. De plus, la vitamine C contribue au fonctionnement du système immunitaire en favorisant la production de globules blancs et en améliorant la résistance aux infections [29].
- La vitamine C est également nécessaire à l'absorption du fer non hémérique d'origine végétale dans l'intestin, ce qui favorise une meilleure absorption du fer et aide à prévenir l'anémie ferriprive. De plus, elle joue un rôle dans la synthèse de certaines hormones et neurotransmetteurs, tels que l'adrénaline et la dopamine.
- ✓ Une carence en vitamine C peut entraîner le scorbut, une maladie caractérisée par des symptômes tels que la fatigue, la faiblesse, des saignements des gencives, des douleurs articulaires et musculaires, et des problèmes de cicatrisation. Les principales sources alimentaires de vitamine C comprennent les agrumes, les fraises, les kiwis, les poivrons rouges, les brocolis et les épinards [30].

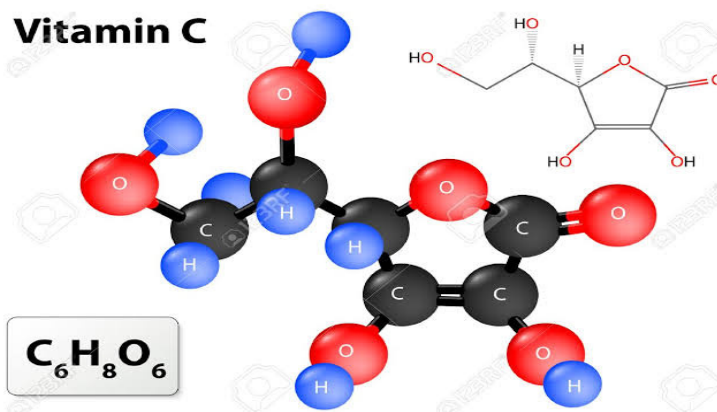


Figure II.11: *La structure de la vitamine (c)*

II.7. Références

- [1] Stevens, P. F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July. Rutaceae Juss. Consulté le 9 mai 2023 à l'adresse <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/orders/sapindalesweb.htm#Rutaceae>
- [2] Grin (Germplasm Resources Information Network). *Citrus aurantium* L. National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. Consulté le 9 mai 2023 à l'adresse <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/taxonomydetail.aspx?id=10714>.
- [3] Sarikurkcu C, Tepe B. (2018). Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Citrus aurantium* L. var. *amara* peel extracts. *J. Sci. Food Agric.* 98(1):17-28.
- [4] Pérez-Gutiérrez, S., & García-Solis, P. (2020). Flavonoids in *Citrus aurantium*: A Review of Pharmacological Activity, Industrial Applications and Analysis Methods. *Molecules*, 25(10), 2303.
- [5] Loizzo, M. R., Tundis, R., Chandrika, U. G., Abeysekera, A. M., Menichini, F., Frega, N. G., & Menichini, F. (2007). Antioxidant and antiproliferative activity of *Citrus* spp. (Lamiaceae) flower extracts. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(4), 147-152.
- [6] Khodabakhsh, P., Shafiee-Nick, R., Nikaein, D., & Farrokhi, F. R. (2015). Phenolic compounds and antioxidant activity of *Citrus aurantium* L. flowers extract. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*, 18(10), 485-491.
- [7] Lv, X., Zhao, S., Ning, Z., Zeng, H., Shu, Y., Tao, O & Feng, Y. (2018). Composition and bioactivity of essential oil from *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl. flower. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-11.
- [8] Wang, T., Jónsdóttir, R., Ólafsdóttir, G., & Jensen, J. (2010). Antioxidant capacities and phenolic compounds in Chinese medicinal plants *Inula japonica* and *Patrinia scabiosaefolia*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(20), 2105-2114.
- [9] Yin, J., Wang, Y., & Yu, X. (2014). Anti-inflammatory effects of *Citrus aurantium* L. extracts on cytokine-induced proinflammatory responses in vitro and in vivo. *Journal of Ethnopharmacology*, 153(1), 335-342.
- [10] Pan, H., Wang, H., Pan, L., Gao, Y., & Huang, X. (2015). Antibacterial activity of extracts from *Citrus aurantium* L. against foodborne pathogens and spoilage bacteria. *Food Control*, 47, 242-247.
- [11] Manthey, J. A., & Guthrie, N. (2002). Antiproliferative activities of citrus flavonoids against six human cancer cell lines. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(21), 5837-5843
- [12] Wilson, P. G., O'Brien, M. M., & Gadek, P. A. (2001). Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. *American journal of botany*, 88(11), 2013-2025

- [13] Chang, C.L., Cho, I.H., Sohn, N.W., and Shin, W.S. (2013). *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry essential oil inhibits microbial growth and acts as a food preservative. *J. Food Prot.* 76, 62-69.
- [14] Prashar, A., Locke, I.C., and Evans, C.S. (2006). Cytotoxicity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil and its major components to human skin cells. *Cell Prolif.* 39, 241-248
- [15] Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., & Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systematic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611.
- [16] Banouh Radia and Azzouz amel, (2019), Evaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et activité antioxydante de l'huile essentielle de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), mémoire de fin d'études (Master), Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira.
- [17] Kapoor, S., and Kapoor, R. (2019). Clove (*Syzygium aromaticum* L.). In *Bioactive Molecules in Food* (pp. 59-70). Springer, Singapore
- [18] Heywood, V. H., Brummitt, R. K., Culham, A., & Seberg, O. (2007). *Flowering Plant Families of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- [19] Asso, I. (1979). *Systema genera plantarum tum ad sexualitatem tum ad specifica examina construendorum*, vol. 3. Madrid, Spain: Imprenta Real.
- [20] Messaï, A., Redouane-Salah, S. (2021). Assessment of the protective effect of artemisia herba-alba asso against eimeria tenella induced coccidiosis in broilers. *BJVM*, 1(19).
- [21] Chaieb, I., Hamouda, A., Tayeb, W., Zarrad, K., Bouslama, T., Laarif, A. (2017). The tunisian artemisia essential oils for reducing contamination of stored cereals by *tribolium castaneum*. *Food Technol. Biotechnol.*, 2(56).
- [22] Dob, T., Benabdelkader, T. (2006). Chemical composition of the essential oil of artemisia herba-albaasso grown in algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 6(18), 685-690.
- [23] Tilaoui, M., Mouse, H., Jaafari, A., Aboufatima, R., Chait, A., Zyad, A. (2011). Chemical composition and antiproliferative activity of essential oil from aerial parts of a medicinal herb artemisia herba-alba. *Rev. bras. farmacogn.*, 4(21), 781-785.
- [24] Salido, S., Valenzuela, L., Altarejos, J., Nogueras, M., Sánchez, A., Cano, E. (2004). Composition and infraspecific variability of artemisia herba-alba from southern spain. *Biochemical Systematics and Ecology*, 3(32), 265-277.
- [25] Boudjelal, A., Siracusa, L., Henchiri, C., Sarri, M., Abderrahim, B., Baali, F., ... & Ruberto, G. (2015). Antidiabetic effects of aqueous infusions of artemisia herba-alba and ajuga iva in alloxan-induced diabetic rats. *Planta Med*, 09(81), 696-704.

[26] Stevens, P. F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. Récupéré le 20 mars 2023, de <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

[27] Czepa, A., and Hofmann, T. (2003). Structural and sensory characterization of key pungent and tingling compounds from black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(9), 2677-2684.

[28] Washington .D. C, Institute of Medicine. (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. National Academies Press.

[29] Gropper, S. S., Smith, J. L., and Carr, T. P. (2018). *Advanced Nutrition and Human Metabolism*. Cengage Learning.

[30] Carr, A. C., and Maggini, S. (2017). Vitamin C and Immune Function. *Nutrients*, 9(11), 1211.



Chapitre III

III. Partie expérimentale

III.1. Extraction de la vitamine C de plante *Petroselinum crispum*

III.1.1. Description botanique de la plante

Le persil, *Petroselinum crispum* ou sativum, est une plante ombellifère de la famille des Apiacées. C'est une plante bisannuelle qui mesure entre 30 et 80 centimètres de haut. Ses tiges robustes portent des feuilles dentées, parfois frisées, divisées en trois segments de couleur vert clair. En été, les tiges se couvrent d'ombelles de fleurs couleur crème, puis de graines aromatiques. Les feuilles sont ce que l'on connaît le mieux du persil et que l'on utilise en cuisine [1].



Figure III.1 : *Petroselinum crispum*

III.1.2. Mode opératoire

On introduit dans un mixeur 100g de la matière frais et broyée des parties aériennes de *Petroselinum crispum* avec 200 ml d'eau distillée, le tous est mélangés avec l'ajout de 0,8 g de l'acide oxalique et 20 ml d'acide sulfurique (0,05 N), le mélange est filtré puis l'extrait obtenu est centrifugé à 3700 rpm pendant 30 min après ce processus, nous obtenons 150 ml du jus.

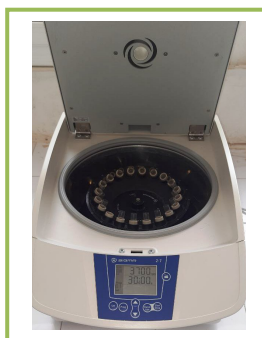


Figure III.2 : l'appareil de centrifugeuse

100 ml d'eau distillée est ajouté au jus et laissé macérer toute la nuit, après la filtration le mélange est rendu basique en ajoutant des quantités égales de carbonate de calcium et d'oxyde de calcium avec agitation constante on utilise un barreau magnétique jusqu'à un pH devient entre 8 et 8,5. La solution ainsi obtenue devienne laiteuse (le mélange est riche en

ascorbate de calcium), le processus est accéléré en ajoutant 120 ml d'acétone, la solution est filtré sous vide, ensuite en ajoutant à la solution obtenue un excès de Chlorure de calcium qui favorise la précipitation de l'ascorbate de calcium par l'effet de l'ion commun. Le précipité est dissout dans l'eau distillée sous agitation avec l'ajout progressif de l'acide sulfurique (1 N) jusqu'à l'obtention d'un pH entre 2,3 et 2,8. Ensuite, on laisse le mélange à décanter quelques minutes puis on vérifie le pH, le sulfate de calcium qui se forme est ensuite filtré et le filtrat est évaporé, l'extrait obtenu noté (**Ex. Vit.C**) est riche en vitamine C (Acide ascorbique) et d'autres produits tels que l'acide maléique [2].

III.1.3. Dosage de la vitamine C dans de l'extrait (**Ex. Vit.C**) [3]

❖ Informations sur la vitamine C

La vitamine C est présente dans les agrumes, des fruits et les légumes frais en quantité variable. Elle intervient dans l'élaboration des tissus, dans la formation des vaisseaux, des cartilages et de l'osséine des os. Elle stimule la formation des globules rouges.

Les besoins journaliers pour un être humain sont de l'ordre de 75mg et sont augmentés dans les périodes de surmenage, de fatigue, des maladies infectieuses.

La vitamine C ($C_6H_8O_6$) s'oxyde facilement et, pour cette raison, elle est utilisée comme agent antioxydant pour la conservation de certains aliments (son nom de code est alors E300). L'oxydant associé est l'acide déshydroascorbique ($C_6H_6O_6$).

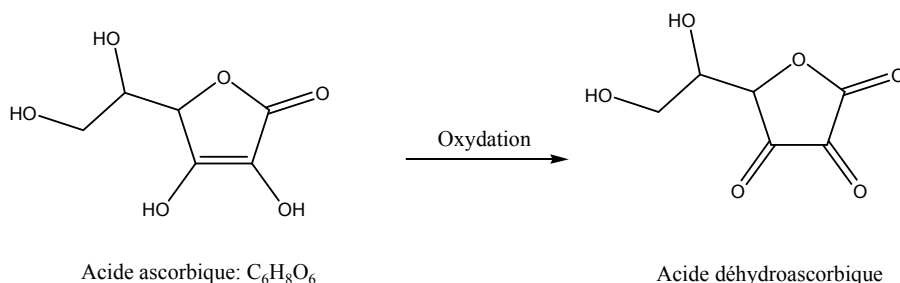
❖ Principe du titrage

On ne peut titrer directement la vitamine C. Aussi procède-t-on à un dosage dit indirect dont le principe est le suivant :

La vitamine C contenue dans un échantillon de jus de citron est mise en présence d'une quantité de diiode (I_2) connue. Le diode est le réactif en excès. Dans ces conditions la totalité de la vitamine C est oxydée (réactif limitant), puis on titre le diiode en excès restant par une solution titrante de thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$).

Les différents couples rédox mis en jeu sont :

- $S_4O_6^{2-} / S_2O_3^{2-}$
- $C_6H_6O_6 / C_6H_8O_6$
- I_2 / I



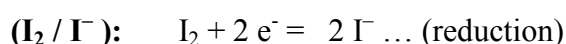
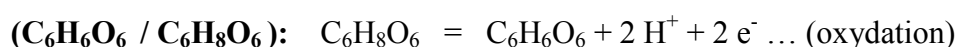
❖ Produits nécessaires

- Solution de I_2 à $C_1 = 0,625 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- Solution de $S_2O_3^{2-}$ à $C_2 = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$
- Empois d'amidon

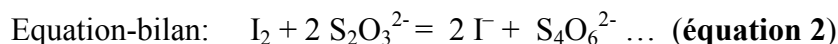
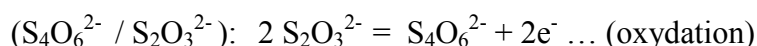
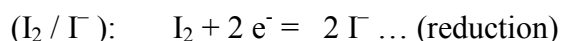
❖ **Mode opératoire**

- Dissoudre 10 mg de l'extrait préparé (**Ex. Vit.C**) dans 10 ml d'eau distillée.
- Prélever $V_0 = 5$ mL de cette solution et les introduire dans l'erlenmeyer.
- Ajouter ensuite $V_1 = 10$ mL de solution de diiode et mélanger.
- Remplir la burette avec la solution de thiosulfate et ajuster au zéro.
- Attendre environ 5 minutes.
- Rajouter 4 gouttes d'empois d'amidon dans l'erlenmeyer puis procéder au titrage de l'excès de diiode par le thiosulfate. Arrêter l'ajout de thiosulfate dès que la solution se décolore. Noter alors le volume versé V_{2E} .

❖ Réaction entre la vitamine C et le diiode



❖ Réaction entre le diiode et les ions thiosulfate (équation du titrage)



On appelle :

- n_0 la quantité de vitamine C
- n_1 la quantité de diiode introduite au départ
- n_{2E} la quantité de thiosulfate nécessaire au dosage de l'excès de diiode

• **la relation entre n_0 , n_1 et n_{2E} .**

Dans la première réaction le réactif en excès est le diiode, donc la totalité de la vitamine C disparaît, soit n_0 mole, alors que seulement une égale quantité soit n_0 mole de diiode est consommé sur les n_1 moles introduites. La quantité de matière de diiode restant en excès dans le mélange est donc égale à $n_1 - n_0$. C'est cette quantité de diiode qui va être titrée avec le thiosulfate lors de la deuxième réaction. A l'équivalence de ce 2^{ème} titrage on doit introduire les réactifs dans les proportions stoechiométriques soit deux fois plus de thiosulfate (ici n_{2E}) que de diiode.

Donc
$$n_{2E} = 2(n_1 - n_0)$$

• **La relation entre C_0 , C_1 , C_2 , V_0 , V_1 et V_{2E} .**

On a $n_0 = C_0 \cdot V_0$ (où C_0 est la concentration molaire en vitamine C)

$n_1 = c_1 \cdot V_1$ et $n_{2E} = C_2 \cdot V_{2E}$

Donc
$$C_2 \cdot V_{2E} = 2 (C_1 \cdot V_1 - C_0 \cdot V_0)$$

III.2. Extraction de la plante *Citrus aurantium*

III.2.1. Description botanique de la plante

Le bigaradier (*Citrus aurantium*) appartient à la famille des Rutacées, et s'inscrit dans la grande collection d'agrumes existants. Le genre *Citrus* compte une quinzaine d'espèces d'arbustes appréciés pour leurs fruits, tous originaires d'Asie du sud-est, d'Inde et de Chine où le climat subtropical leur convient. Ses rameaux épineux portent des feuilles persistantes coriaces, lustrées, de 7 à 10cm de long, oblongues, pointues, d'un joli vert moyen, munies d'un pétiole ailé. Elles sont très aromatiques lorsqu'on les froisse.

Les fleurs blanches groupées par 2 ou 3 dégagent un doux parfum. Elles sont suivies de fruits ronds aplatis, un peu bosselés, orangés légèrement teintés de rouge, contenant beaucoup de pépins et à la saveur acide et amère à la fois.

Les feuilles de l'oranger amer contiennent une essence aromatique comportant 50% d'acétate de linalyle. Les fleurs renferment des flavonoïdes (naringoside et néo-ériocitroside) ainsi qu'une essence aromatique à linalol (35%). Le zeste ou péricarpe est riche en essence aromatique composée à 90% de limonène, mais il contient aussi des flavonoïdes, des triterpènes, du carotène, de la pectine et de la vitamine C [4].



Figure III.3 : *Citrus aurantium*

III.2.2. Récolte du matériel végétal

La récolte de la matière végétale a été effectuée dans la wilaya de Guelma à l'université de Guelma au mois de Mai 2023. La plante a été identifiée selon la bibliographie tirée des sites d'internet.

III.2.3. Préparation du matériel végétal

Les feuilles de la plante sont laissées à l'ombre pour sécher à température ambiante dans un endroit ventilé pendant une semaine, ensuite la matière végétale séchée a été broyée à l'aide d'un broyeur, la masse finale obtenue égale 700 g.

III.2.4. Extraction des principes actifs

III. 2.4.1. Extraction solide/liquide

Le matériel végétal broyé (700 g) de *Citrus aurantium* est mis à macérer dans un mélange hydroalcoolique (Méthanol/Eau) en proportion (80/20 ; v/v) pendant 48 h à température ambiante, après la macération, l'extrait est filtré puis évaporé à température n'excédant pas 55 °C par un évaporateur rotatif. L'extrait méthanolique ainsi obtenu a été pesé, la masse finale égale à 33.2 g.

Le rendement est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids du matériel végétal utilisé. Le rendement exprimé en pourcentage (%), est calculé par la formule suivante.

$$R\% = (m/m_0) \times 100$$

R : le rendement

m : masse d'extrait à sec

m₀ : masse de la matière végétale

$$R\% = (33.2/700) \times 100 = 4.74 \%$$

III. 2.4.2. Extraction liquide/liquide

L'extrait méthanolique obtenu après l'évaporation (g) a été dilué dans 280 ml de l'eau distillée à raison de 400 ml pour 1kg de matière sèche, puis a subi à des extractions successives liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissant en commençant par l'hexane, le dichlorométhane, l'acétate d'éthyle et le n-butanol. A chaque fois on ajoute le 1/3 volume de solvant extracteur par rapport au volume de la phase aqueuse; cette opération a été répétée deux fois pour chaque extraction. Dans l'ampoule à décanter et pour améliorer le processus de l'extraction, les deux solvants ont été bien mélangé puis laisser à décanter aux moins 20 minute jusqu'à l'obtention de deux phases distinctes, une phase organique et autre aqueuse, ensuite la phase organique est récupérée dans un récipient en verre et la phase aqueuse est prêt pour une deuxième extraction, selon la densité de chaque solvant on peut distinguer facilement entre la phase organique et aqueuse.

S'il existe dans l'ampoule à décanter une phase intermédiaire entre les deux phases, aqueuse et liquide, dans ce cas là en ajoutant une solution saturée de chlorure de sodium (Na⁺,Cl⁻) pour mobiliser les molécules d'eau encore piégées dans la phase organique et de diminuer la solubilité des produits dans la phase aqueuse, c'est ce qu'on appelle le phénomène de relargage.

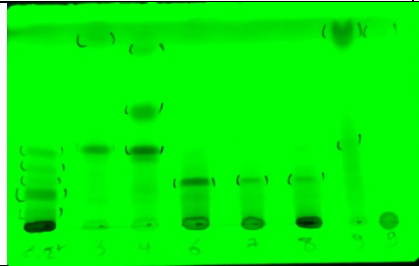
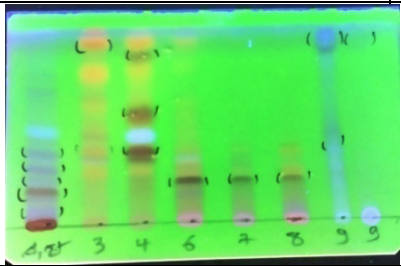
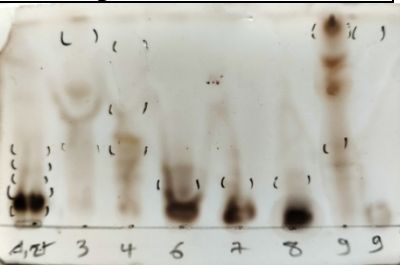
Les trois phases organique ainsi obtenues (hexane, dichlorométhane, acétate d'éthyle et n-butanol) ont été séchées par du sulfate de sodium anhydre (Na₂SO₄), afin d'éliminer les traces d'eau susceptible d'avoir été retenue dans cette procédure puis filtrées et pesées, les masses des extraits obtenus sont :

- Masse de l'extrait hexane = 0.40 g.
- Masse de l'extrait dichlorométhane = 1.80 g.
- Masse de l'extrait acétate d'éthyle = 0.94 g.
- Masse de l'extrait n-butanol = 2.11 g.

III.3. Séparation et purification d'une fraction issue de la phase dichlorométhane de l'espèce *Artémisia Herba alba*

III.3.1. Test chromatographique sur CCM

Après des tests chromatographique sur couche mince de gel de silice CCM effectuées sur quelques fractions issues de la phase dichlorométhane de l'espèce *Artémisia Herba alba*, l'éluant choisi est (Chloroforme / Méthanol) en proportion (50 : 1, v / v) selon le chromatogramme ci-après.

| $\lambda = 254 \text{ nm}$ | $\lambda = 312 \text{ nm}$ | Après révélation |
|---|---|--|
|  |  |  |
| Révélateur : (Acide acétique : l'eau : H₂SO₄ ; 20 : 4 : 1 v/v/v) | | |

D'après l'apparition des taches des fractions de 1 jusqu'à 9 sous les deux lampes UV (254 et 312 nm), nous nous sommes intéressés par les trois fractions 6 à 8 à cause de la ressemblance de son profil sous les lampes UV. Ensuite ces fractions sont réunissent, la masse totale égale 86 mg.

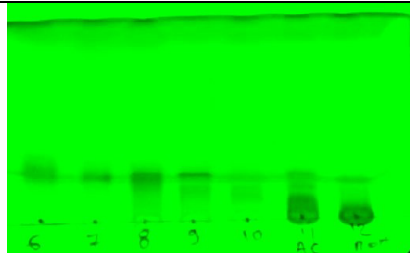
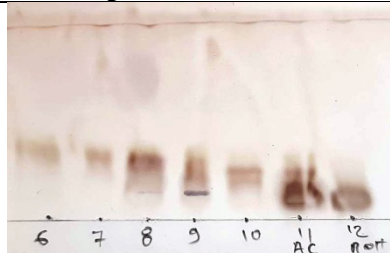
III.3.2. Séparation chromatographique sur colonne

Une masse de 86 mg issue de l'extrait dichlorométhane a été dissoute dans le minimum du solvant (méthanol), la solution obtenue est déposée sur une colonne de gel de silice (Type 60, 70-230 mesh, 63-200 μm , Fluka) préparée dans le chloroforme. L'élution a été débuté par le chloroforme pur puis la polarité sera augmentée par l'addition de méthanol puis l'acétone pur et enfin le méthanol pour débarrasser les molécules restantes sur le gel de silice de la colonne et cela selon le tableau suivant :

Tableau IV.5: Résultats des fractions récoltées de la colonne d'une fraction issue de l'extrait dichlorométhane d'*Artémisia Herba alba*.

| CH ₃ Cl % | 100 | 95 | 90 | 85 | 80 | Acétone 100% | Méthanol 100% |
|----------------------|-----|-----|-----|----|----|-----------------|------------------|
| MeOH % | 0 | 5 | 10 | 15 | 20 | / | / |
| Volume (ml) | 100 | 100 | 100 | 50 | 50 | 50 | 50 |

Des fractions de 50 ml sont recueillies et évaporées, le total des fractions recueillies égal à 10, ces fractions sont subissent à la chromatographie sur couche mince (C.C.M) utilisant le même système: CHCl_3 / MeOH (50 :1) puis sont examinées sous les deux lampes UV (254 et 312 nm) ont donnée les résultats rassemblées dans le tableau ci-dessous.

| $\lambda = 254 \text{ nm}$ | Après révélation |
|---|--|
|  |  |
| Révélateur : (Acide acétique : l'eau : H_2SO_4 ; 20 : 4 :1 v/v/v) | |

III.4. Extraction des huiles essentielles

III.4.1. Extraction des huiles essentielles de la plante *Citrus aurantium* et *Syzygium aromaticum*

❖ Mode opératoire :

Le moyen le plus approprié pour extraire l'huile essentielle est l'hydrodistillation, consiste à placer la plante dans un ballon avec de l'eau, à chauffer l'eau jusqu'à ébullition, elle est ensuite ramenée à l'état liquide par réfrigération. Le mélange d'eau et l'huile essentielle est recueilli dans un Erlenmeyer ou il va subir un relargage, une décantation et un séchage.

➤ Chauffage

L'opération a consisté à introduire (300 g de la matière végétale séchée et broyée – les écorces de la fruit – pour *Citrus aurantium* et 100 g – clou de girofle – pour *Syzygium aromaticum*) dans un ballon de 1000 mL en verre, à laquelle on a ajouté une quantité suffisante d'eau distillée environ (600 mL pour *Citrus aurantium* et 300 ml pour *Syzygium aromaticum*) sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition. On ajoute dans le ballon, quelques grains de pierre ponce pour éviter toutes formation de la mousse. Après la fermeture du montage et mise en marche de chauffe ballon, nous réglons la température à 100°C. Cette opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition.



Figure III.4 : Matière végétale de *Citrus aurantium*

La solution condensée est en général formée de deux liquides non miscibles appelés phase, la phase aqueuse, la plus abondante, est constituée d'eau dans laquelle sont dissoute très peu d'espèces odorantes et la phase organique représentée essentiellement par l'huile essentielle qui est constituée des espèces odorantes.

➤ **Relargage**

La phase organique contient les plus grandes parties des composés odorants et la phase aqueuse en contient un peu moins. Afin de récupérer les molécules odorantes dissoutes dans le distillat, on réalise un relargage.

Pour cela, on utilise un sel afin de récupérer cette huile, c'est le chlorure de sodium NaCl. Par la suite, le mélange est placé sous un agitateur jusqu'à dissolution. La solubilité de l'huile essentielle du *Citrus aurantium* étant moins importante dans l'eau salée que dans l'eau, l'ajout du chlorure de sodium favorise la séparation des 2 phases.

➤ **Décantation**

Le mélange précédent est laissé reposer, pendant quelques minutes, la phase organique, à densité faible, surnagera sur la phase aqueuse, cette dernière est recueillie en premier dans un bêcher, pour pouvoir ensuite récupérer l'huile dans un autre bêcher.

➤ **Séchage et filtration**

Dans le but d'éliminer le peu d'eau susceptible d'avoir été entraînée avec la phase organique lors de la décantation, on procède à un séchage au moyen du sulfate de sodium anhydride Na₂SO₄. Ensuite, pour séparer l'huile de ce dernier, on réalise une filtration par papier filtre. L'huile est ainsi conservée à une température entre 0 à 6 °C dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement pour éviter toute dégradation et à l'abri de la lumière pour éviter toute volatilisation.

- Pour extraire l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*, nous avons transvasé le distillat dans une ampoule à décanter de 1000 ml propre et sec et ajouté 100 ml de dichlorométhane. après une vigoureuse agitation pendant 1 à 2 min, entrecoupées de dégazages, cette opération permet de réaliser une extraction efficace.
- Après la décantation, les deux couches sont séparées; la phase organique et la phase

aqueuse sont localisées en comparant les masses volumiques des deux solvants.

- Nous avons recueilli la phase organique dans un erlenmeyer de 250 mL propre et sec. La phase aqueuse peut être jetée après la réalisation de trois portions de lavage avec le dichlorométhane pour garantir un rendement abordable.
- La phase organique a été filtrée sur filtre plissé après un séchage sur du Na₂SO₄. Le filtrat a été recueilli dans le ballon d'un évaporateur rotatif. La masse de ballon a été déjà mesuré, après l'élimination de dichlorométhane par distillation à l'évaporateur rotatif. on a pesé le ballon et noté la masse d'huile essentielle brute.

Les masses des huiles avec leurs rendements sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau IV.6: Masse et rendement des huiles obtenues

| Huile | Masse (g) | Rendement % |
|----------------------------|-----------|-----------------------------|
| <i>Citrus aurantium</i> | 7 | $(7/300) \times 100 = 2.33$ |
| <i>Syzygium aromaticum</i> | 5 | $(5/100) \times 100 = 5.00$ |

Rendement = (la masse d'huile / la masse de la matière végétale) x 100.

III.4. Références

[1] <https://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-persil-18015/>

[2] Jidimma A. Wapwera, Joseph A. Lori, Alexander O. Edah and Chukuka Achuenu, (2021), a comparative study: the effects of oxalic acid in the extraction and isolation of ascorbic acid (vitamin c). anal chem ind j, 21(5):172.

[3] <http://h.pre.free.fr/wp-content/uploads/a-tp3-vitamine-c.pdf>

[4] <https://jardinage.lemonde.fr/dossier-3238-bigaradier-vertus-orange-amere.html>



Chapitre IV

IV. Résultats et activité antioxydante des huiles

IV.1. Dosage de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C)

Le volume du Thiosulfate obtenus après le dosage de 0.5 mg de l'extrait obtenu dissoute dans 5 ml d'H₂O est : V (Thiosulfate) = 2 ml.

Calcul concentration de la vitamine C

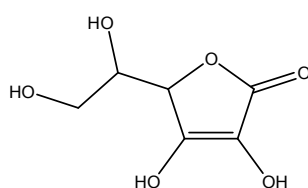
$$C_2 \cdot V_{2E} = 2 (C_1 \cdot V_1 - C_0 \cdot V_0) \text{ d'où } C_0 = (2 C_1 \cdot V_1 - C_2 \cdot V_{2E}) / 2V_0$$

$$C_1 = 0.625 \cdot 10^{-3}; V_1 = 10 \text{ ml}; C_2 = 5 \cdot 10^{-3}; V_0 = 5 \text{ ml.}$$

Après les calculs on trouve $C_0 = 0.25 \cdot 10^{-3} \text{ M} = 0.25 \cdot 10^{-3} \times 176 = 44 \cdot 10^{-3} \text{ g.L}^{-1} = 44 \text{ mg.L}^{-1}$.

IV.2. Infrarouge de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C)

L'analyse de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C) par le spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier (FT-IR) nous donne le spectre suivant:



Acide ascorbique: C₆H₈O₆

Figure IV.1 : Structure de la vitamine C

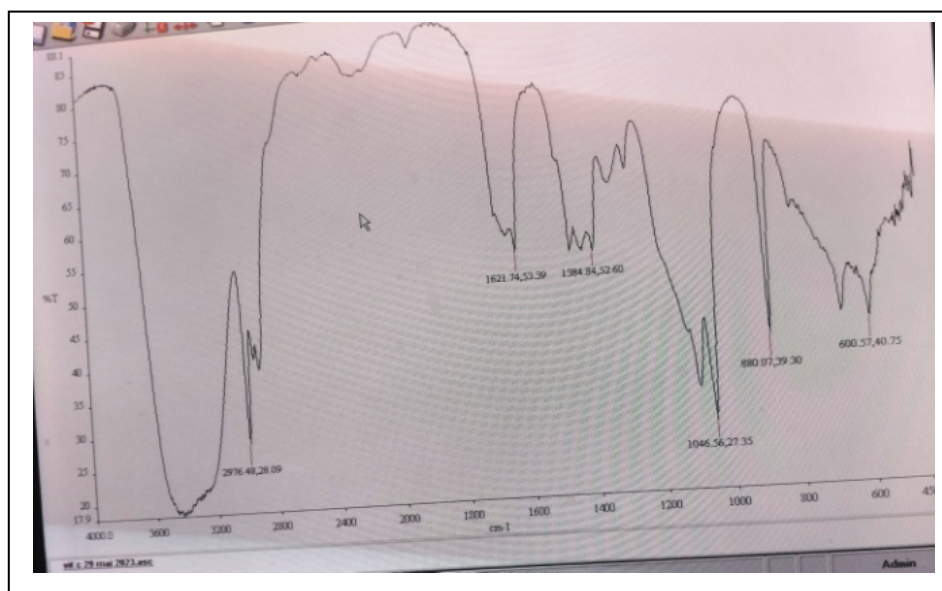


Figure IV.2 : Spectre infrarouge de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C)

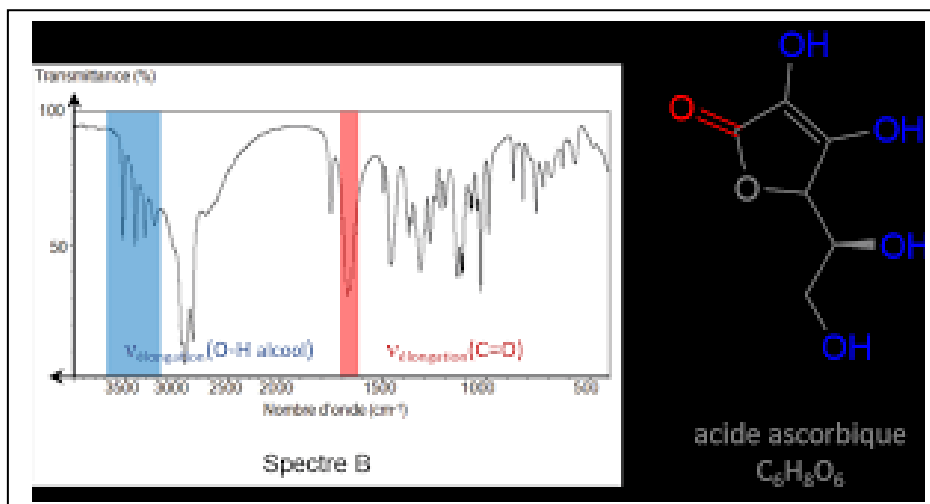


Figure IV.3 : Spectre infrarouge de référence (vit C)

En comparant les deux figures spectre infrarouge de l'extrait obtenu de l'extrait obtenu (Ex. Vit.C) avec le spectre infrarouge de la vitamine C de référence sont presque identiques.

❖ Explication des résultats

Tableau IV.1 : Interprétation du spectre IR de la vitamine C

| Nombre d'onde en cm^{-1} | Type de liaison | explication |
|-----------------------------------|-----------------|---|
| 3200-3600 | O-H | Vibration d'élongation des alcools |
| 2976 | C-H | Vibration d'élongation des C-H (sp^3) |
| 1640 | C=O | Vibration d'élongation des cétones |
| 1621 | $R_2C=CR_2$ | Vibration d'élongation des alcènes |
| 1384-1500 | O-H | Déformation dans le plan des alcools |
| 1046 | C-O | élongation des alcools primaires |
| 880 | C-H | Déformation dans le plan |

IV.3. Infrarouge des huiles essentielles

IV. 3.1. Infrarouge d'huile essentielle d'oranger amer « *Citrus aurantium* »

Le spectre infrarouge d'huile essentielle *Citrus aurantium* est représenté dans les figures IV.4 et IV.5.

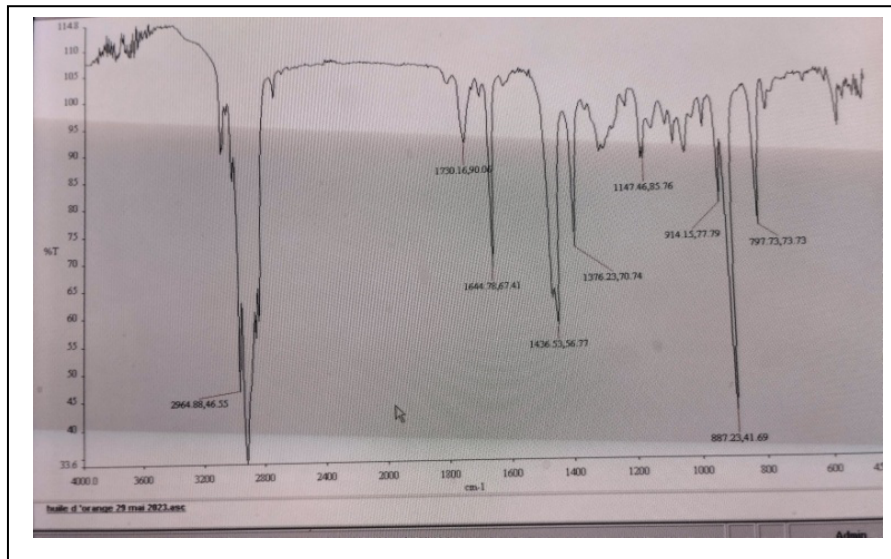


Figure IV.4 : Spectre infrarouge d'huile de *Citrus aurantium*

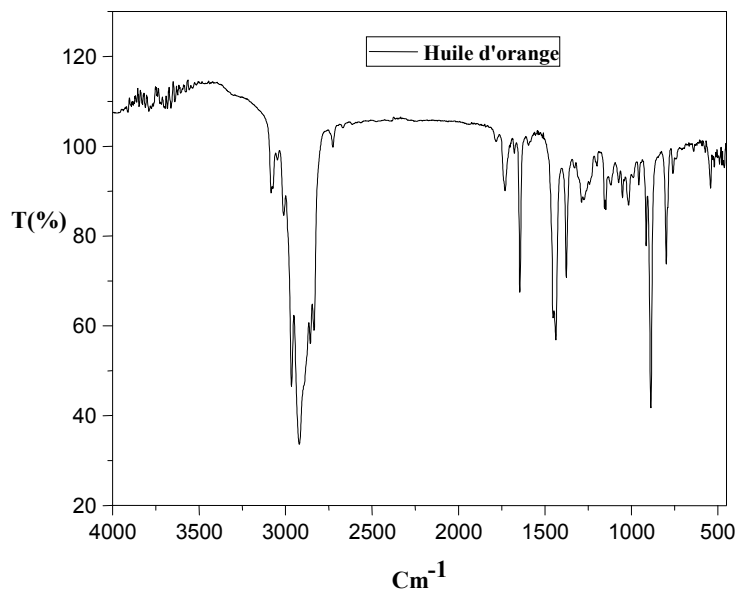


Figure IV.5 : Spectre infrarouge d'huile de *Citrus aurantium* (selon origin)

❖ Explication des résultats

Tableau IV.2 : Interprétation du spectre IR d'huile essentielle d'oranger amer

| Nombre d'onde en cm^{-1} | Type de liaison | explication |
|-----------------------------------|---------------------------------|--|
| 2964 | C-H (alcène) | élongation symétrique de $=\text{C}-\text{H}_2$ (sp^2) |
| 2920 | C-H (alcane) | élongation asymétrique de $-\text{CH}_2-$ (sp^3) |
| 1730 | C=O | Vibration d'élongation des cétones |
| 1644 | $\text{R}_2\text{C}=\text{CHR}$ | Vibration d'élongation des alcènes |
| 1436 | C-H (alcane) | Déformation asymétrique de $-\text{CH}_3$ |
| 1376 | O-H | Déformation dans le plan |
| 887 | C-H | Déformation dans le plan |

En comparant ces résultats avec le spectre infrarouge du limonène, le composé majoritaire d'huile essentielle d'oranger amère, on constate la présence des bandes principales correspondante à élongation symétrique de $=\text{C}-\text{H}_2$ (sp^2), élongation asymétrique de $-\text{CH}_2-$ (sp^3) et élongation des alcènes (**figure IV.6**).

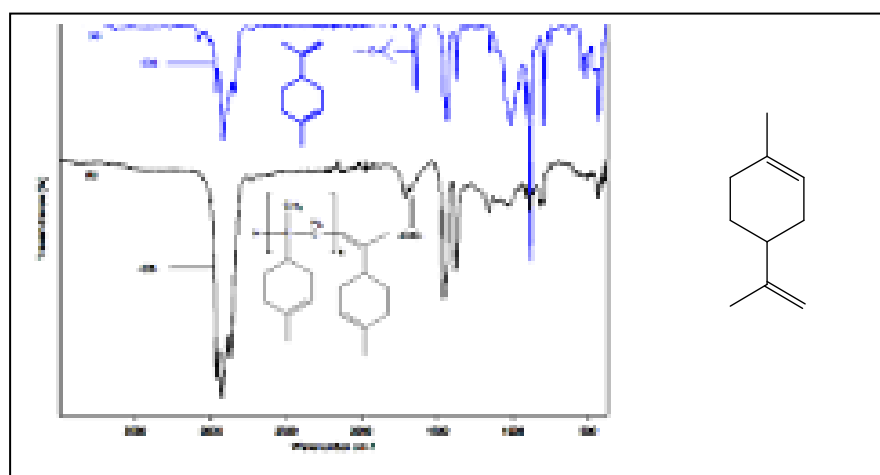


Figure IV.6 : Structure et infrarouge du limonène

IV.3.2. Infrarouge d'huile essentielle du girofle

Le spectre infrarouge d'huile essentielle du girofle *Syzygium aromaticum* est représenté dans les figures IV.7 et IV.8.

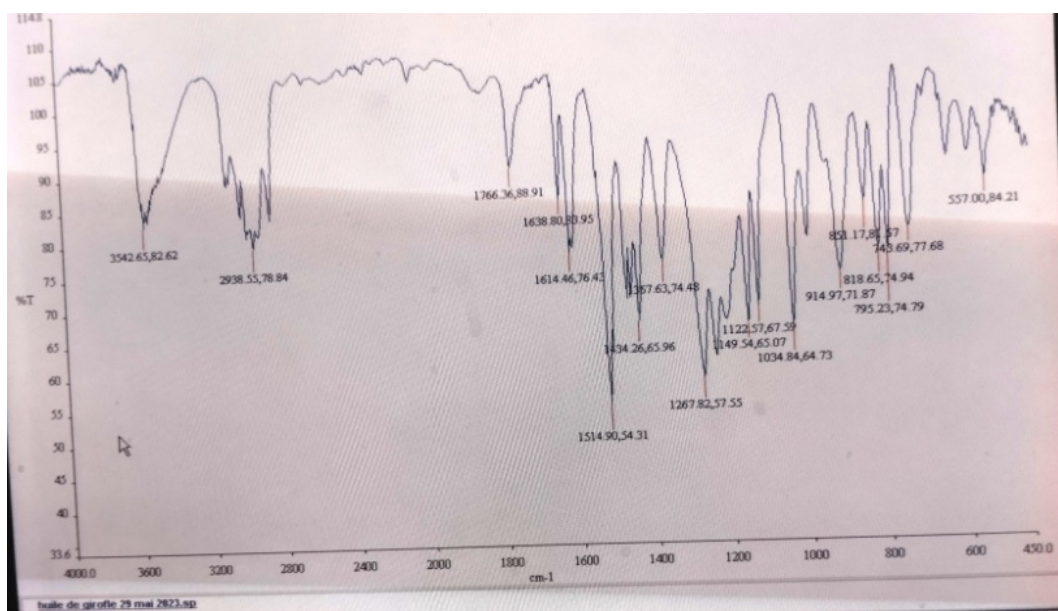


Figure IV.7 : Spectre infrarouge d'huile de girofle

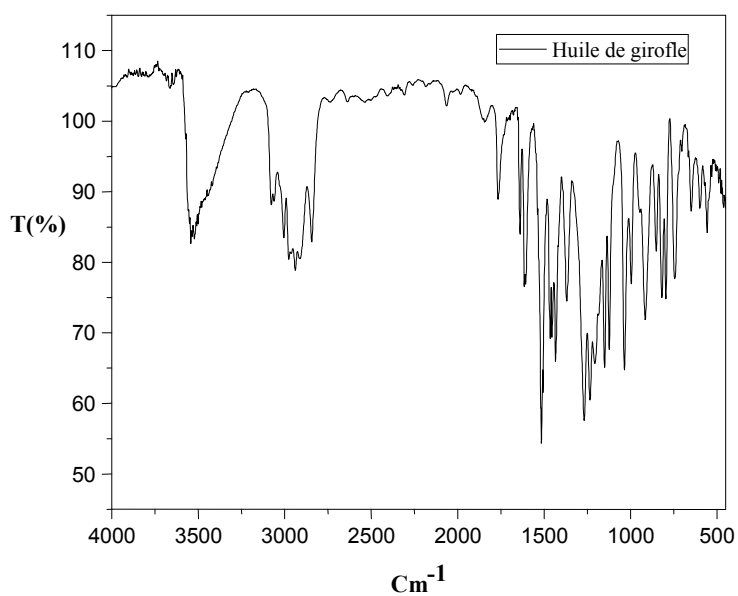


Figure IV.8 : Spectre infrarouge d'huile du girofle (selon origin)

Selon la bibliographie l'huile essentielle du girofle est riche en composés aromatiques tels que Eugénol, acétate d'eugényle, α - pinène et autres. En se basant ici sur le spectre infrarouge d'eugénol et acétate d'eugényle (Figure IV.9).



Figure IV.9 : (A) Structure d'eugénol et (B) acétate d'eugényl

❖ **Interprétation des résultats**

Le spectre infrarouge d'huile essentielle du girofle donne les résultats suivants :

Tableau IV.3 : Interprétation du spectre IR d'huile essentielle du girofle

| Nombre d'onde en cm^{-1} | Type de liaison | explication |
|-----------------------------------|----------------------------------|--|
| 3542 | O-H (acide) | élongation symétrique |
| 2820-3100 | C-H (aromatique, alcène, alcane) | élongation asymétrique de $-\text{CH}_2-$ (sp^3) |
| 1766 | C=O | Vibration d'élongation des acides |
| 1614 | $\text{H}_2\text{C}=\text{CHR}$ | Vibration d'élongation des alcènes |
| 1514 | N-H (amide) | Déformation amide secondaire |
| 1367 | O-H | Déformation dans le plan |
| 1267 | C-O | élongation des esters |
| 1149 | C-O | Elongation des éthers |
| 818 | C-H | Déformation dans le plan |

IV.4. Activité antioxydante des huiles essentielles

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été mesurée à l'aide de la méthode basée sur piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), c'est un radical libre, stable, qui possède une bande d'absorbance à 517 nm, cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule. Le principe est basé sur la diminution de l'absorbance de ce radical provoquée par la présence d'une molécule ou d'un extrait de plante [1].

Le DPPH est un composé initialement violet, il se décolore en présence d'un antioxydant donneur de proton, cette décoloration représente la capacité des composés à piéger les radicaux libres, Le changement de couleur peut être suivi par la spectrophotométrie UV visible à 517 nm et par conséquent le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait brut peut être déterminé.

Au cours de la réaction entre le radical et l'antioxydant, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle de couleur violet est réduit par les composés antioxydants en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine jaune pâle selon la réaction suivante [2].

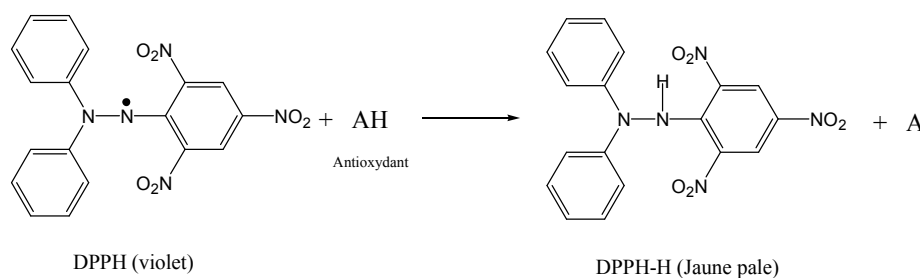


Figure IV.10 : Réaction du DPPH avec l'antioxydant

❖ Protocole expérimental

L'activité antiradicalaire des huiles essentielles a été mesurée selon la méthode décrite par Mohammad Hojjati et Hassan Barzegar, 2017 avec quelques modifications [3].

En effet, 0,5 ml d'une solution méthanolique (0,04%) de DPPH a été mélangée avec 1 ml de différentes dilutions des huiles (0,5 ; 1 ; 2 ; 5 ; 10 µg/ml).

Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement et maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes et à température ambiante.

La décroissance de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm puis convertie en pourcentage d'inhibition (% I) en appliquant l'équation de Scavenger [4]:

$$\% I = [(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échant}}) / A_{\text{contrôle}}] \times 100$$

Avec ;

$A_{\text{contrôle}}$: Absorbance du contrôle (absorbance du DPPH dans le méthanol).

A_{échant} : Absorbance des huiles à testées.

La concentration de l'échantillon équivalente pour réduire 50% du radical libre DPPH (IC₅₀) est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, la valeur d'IC₅₀ la plus faible correspond à l'efficacité de l'échantillon le plus élevé.

❖ Résultats et discussion

La capacité des échantillons à piéger le radical libre DPPH• a été mesurée par la spectrophotométrie à 517 nm, en suivant le changement de couleur du violet au jaune.

Les résultats sont donnés en tableau IV et en courbes donnant les pourcentages d'inhibitions des huiles en fonction des concentrations (**Figure IV.11**).

Tableau IV.4: Résultats d'activité antioxydante au DPPH des huiles et vitamine C.

| Les huiles Les dilutions | % D'inhibition du radical DPPH. | | | | | IC ₅₀ (µg/mL) |
|-----------------------------|---------------------------------|-------|-------|-------|-------|-----------------------------|
| | 0.5 | 1 | 2 | 5 | 10 | |
| HE O A | 16.66 | 44.44 | 55.55 | 58.33 | 69.44 | 1.30 |
| HE G | 38.88 | 58.33 | 61.11 | 63.88 | 80.55 | 0.75 |
| Réf Vit C | 13.88 | 19.44 | 25.00 | 50.00 | 83.33 | 5.00 |

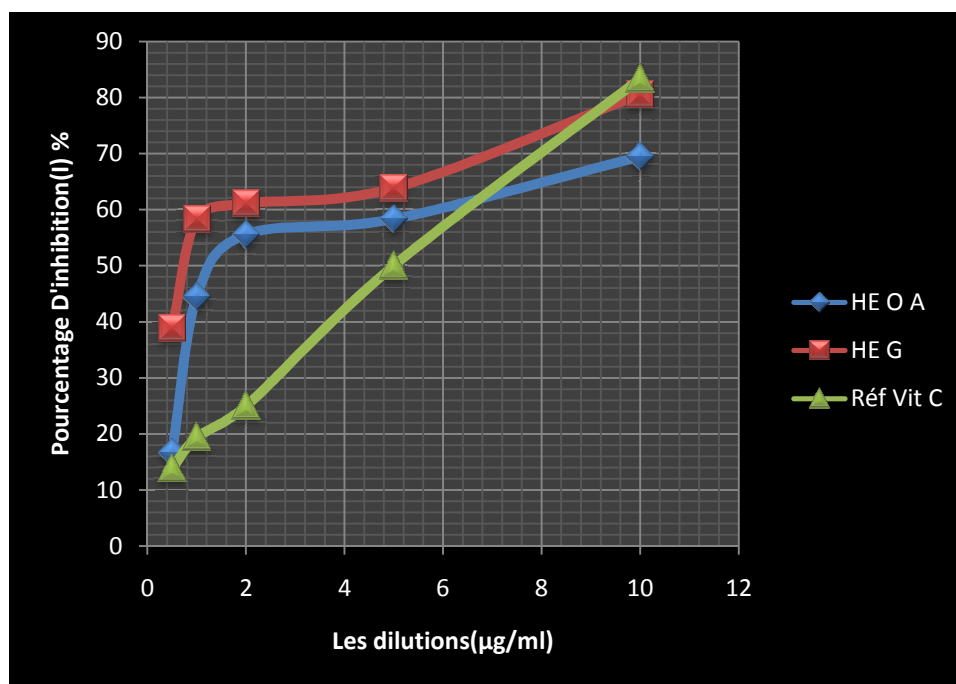


Figure IV.11 : Les pourcentages d'inhibitions en fonction des concentrations

Les résultats d'IC₅₀ sont présentés dans l'histogramme illustré dans la figure IV.12.

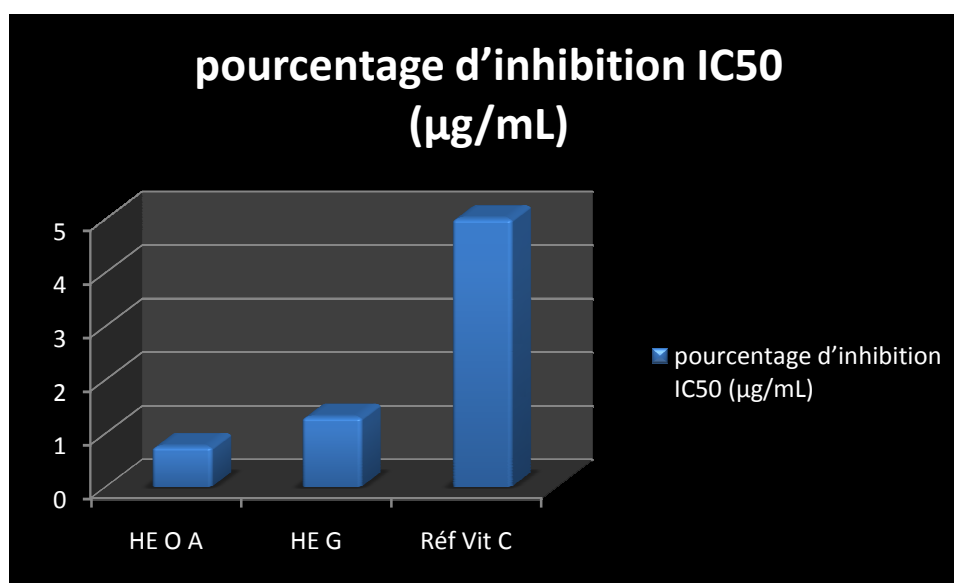


Figure IV.12 : IC₅₀ des huiles et de la vitamine C

La figure IV.11 montre une diminution significative de la concentration du radical DPPH due à l'effet de piégeage des radicaux libres des différents extraits des huiles essentielles d'oranger amer et du girofle en comparant avec le témoin (Vitamine C).

Le taux d'inhibition équivalente à réduire 50% du radical libre DPPH (IC₅₀) de l'huile essentielle de girofle (IC₅₀ = 0.75 µg/mL) est plus faible en comparaison avec la valeur de l'huile essentielle d'oranger amer (IC₅₀ = 1.30 µg/mL) et du témoin (IC₅₀ = 5.00 µg/mL) cela explique que l'activité antioxydante du girofle est plus efficace que celle de l'huile de l'oranger amer et de la vitamine C, ce qu'ils montrent que l'huile essentielle du girofle est plus riche en composés antioxydants par rapport à celle d'oranger amer, cela est strictement conforme avec la composante chimique des deux huiles et avec les données de la littérature.

IV.5. Références

- [1] Abdel-Lateff. A; Konig. G. M; Fish.K. M, Holler. U; Jones. P. G; Wright. A. D, (2002), New antioxidant Hydroquinone Derivatives from the the Algicolous Marine Fungus *Acremonum Sp.* Journal of Natural Products, 65, 1605-1611.
- [2] Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant avticity. Songklanakarim J .Sci .Technol, 26, 211 – 219.
- [3] Mohammad. H and Hassan. B, (2017), Chemical Composition and Biological Activities of Lemon (*Citrus limon*) Leaf Essential Oil, Nutrition and Food Sciences Research, (4)4, p. 15-24.
- [4] Braca. A; De Tommasi. N; Di Bari. L; Pizza. C; Politi. M; Morelli. I, (2001), Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. Journal of Natural products, 64, 892-895.



Conclusion générale

Conclusion générale

L'objectif de notre travail est porté sur différents axes, l'étude phytochimique des espèces *Citrus aurantium* et *artemisia herba alba* appartenant aux familles des Rutacées et des astéracées respectivement. L'extraction de la vitamine C de l'espèce *Petroselinum crispum* et des huiles essentielles d'écorces de l'espèce *Citrus aurantium* et de clou de girofle.

La première partie est consacrée sur l'étude bibliographique approfondie sur les huiles essentielles en général, et la composition chimique des espèces étudiées, en particulier.

La deuxième partie est portée sur les métabolites secondaires des espèces étudiée, cette partie à montrer que les espèces choisies sont très riche substances naturelles telles que les terpenoïdes, les flavonoïdes, les alcaloïdes et les huiles essentielles.

La dernière partie est réservée aux travaux personnelles renfermant les différentes méthodes d'extractions : extraction solide/solide, extraction solide/liquide, extraction de la vitamine c et enfin l'extraction des huiles essentielles.

Les résultats obtenues sont très satisfaisantes et confirme bien la richesse de ces huiles essentielles en composés aromatiques, L'étude de ces extraits par la spectroscopie infrarouge montre que l'extrait de la vitamine C est identique avec celle trouver dans la littérature, cela est confirmée par la présence des pics correspondants aux fonctions de la molécule.

L'évaluation de l'activité antioxydante par la méthode du DPPH à donner aussi une activité intéressante par rapport au témoin utilisé et montre que l'activité antioxydante de l'huile de girofle est plus forte que l'huile d'oranger amer.

Comme perspectives, la purification des extraits séparés de l'espèce *artemisia herba alba* et la détermination structurale des composés purifiés ainsi que l'étude des activités biologiques des extraits de *Citrus aurantium* sont des travaux essentiels pour le futur.