



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية

N°d'enregistrement

Université de Ghardaïa

كلية العلوم والتكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم هندسة الطرائق

Mémoire

Département de Génie des Procédés

Pour l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences et Technologie

Filière: Génie des Procédés

Spécialité: Génie Chimique.

Thème

**Optimisation et évaluation de quelques techniques
d'extraction de curcumine à partir des matières différentes**

Par

FERDJALLAH Ikram & BEN SANIA Noura

Le jury composé de:

Adamo Youcef	MAA	Univ. Ghardaïa	Examineur
Baba arbi Ilyace	MAA	Univ. Ghardaïa	Examineur
HELLALI Naima	MCB	Univ. Ghardaïa	Encadreur
LAGHOUTER Oum Kelthoum	Maitre assistante	Univ. Ghardaïa	Co-Encadreur

Année universitaire 2020 / 2021

Remerciement

Tout d'abord un grand merci à notre Dieu, le tout puissant, qu'il nos offert la force, la Volonté, la santé et la patience à fin de réaliser ce travail.

Nos remerciements particuliers à notre promotrice : Mme HELLALI Naima et Mme LAGHOUIER Oum Kelthoum, qui ont supervisé et dirigé ce travail Avec une grande rigueur scientifique. Pour Leurs conseils et confiance qu'elles nous accordent nous a permis de faire le travail.

Nous remercions tous les membres du jury d'avoir accepté de Juger ce travail.

*Nous remercions tous les enseignants de sciences et Technologie et génie de procédés de l'université de Ghardaïa.
et de tous ceux qui la possèdent*

Aidez-nous tôt ou tard pendant toutes nos années scolaires.

Nous profitons également de cette occasion pour envoyer nos remerciements

À nos parents pour leurs sacrifices, et à tous les membres de la classe

2020/2021 Master en génie chimique

Dédicace

Merci, mon Dieu, à beaucoup, s'il vous plaît, et votre générosité.

À ma compagne qui m'a porté pendant neuf mois, elle m'a élevé et est restée avec moi ma mère. Sans oublié mon père qui attendait ce moment, et là je vous le dis, papa, votre fille obtenu son diplôme aujourd'hui, et elle vous donne une belle idée d'elle chaque jour. Merci à vous les deux. Que Dieu vous garde et protège.

À mes frères et sœurs, mon Dieu les a divertis jusqu'à ce jour, apaise leurs cœurs, éloigne leurs soucis et leur tristesse. Vous avez surmonté cet obstacle.

Merci à tous les petits de ma famille, combien tu es adorable, combien je t'aime. Chacun de vous a sa propre façon d'apporter la joie et le bonheur à mon cœur. Je vous dis, votre tante, votre petit oncle maternel se souvient de vous de temps en temps, de seconde en seconde.

Aux épouses de mes sœurs sans exception, que Dieu vous accorde le succès dans votre profession. Aux femmes de mes frères.

Merci à tous mes enseignants. J'ai terminé mes études et mes conseils pour terminer ma carrière universitaire, ainsi que pour mes camarades de classe.

Merci à tous ceux qui ont participé à mon voyage universitaire.

Merci. Noura, la sœur à laquelle ma mère n'a pas donné naissance.

Enfin, je dédie cet humble travail et j'en conclus. Mon frère préféré à mes yeux Muhammad. J'espère que vous êtes à mes côtés maintenant, et que vous avez des jours meilleurs ici inshallah.

IKRAM

Dédicace

A mes très chers parents

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance.

Vous avez fait plus qu'un parent puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder la santé et une longue vie.

A mes très chères sœurs : Safia, Sarah, Radjaa

A mes très chers frères : Abd Allah et Walid

Les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement,

L'amour et l'affection que je porte pour vous.

Ma chère amie Ikram, qui ma partage les moments de travail difficiles.

Que dieu vous protège et vous bénisse

Remerciements particuliers à mon fiancé actuel et à mon futur mari, merci beaucoup pour tout, ton soutien, ton patience, ton écoute, ton attention, vos prières, et plus que ça, d'être mon paradis.

A mes amies, pour votre fidèle amitié et les bons moments passés ensemble tout au long de mes études et en dehors.

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

Noura

ملخص

هذه الدراسة تهدف الى ايجاد الشروط المثلى لاستخلاص الكركمين من جذور الكركم، القرفة، قشور البرتقال و الرمان و الليمون بطريقتين: طريقة الاستخلاص بالنقع باستعمال مذيب بارد و طريقة السوكسليت.

مستخلصات الكركمين المتحصل عليها بالطريقتين ذو خاصية لزجة و لون يتراوح من البني الغامق الى البرتقالي او الاصفر و رائحة النبات المستخلص. مردود الاستخلاص يتراوح من 1.74% -15.39 حيث يحتل الكركم أعلى نسبة يليه الرمان و القرفة. استخلاص الكركمين من الكركم و قشور البرتقال بالطريقتين أثبت أن أعلى نسبة من الكركمين هي التي استخلصت من الكركم بطريقة النقع باستعمال الايثانول(15.388%) بينما البرتقال فكانت مستخلص الميثانول بطريقة السوكسليت(13,651%). و بالتالي نسبة استخلاص الكركمين باستخدام طريقة النقع البارد أعلى بكثير منها باستخدام السوكسليت، وأفضل مذيب هو الإيثانول

امكننا فحص كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة باستعمال الهكسان/اسيتات الايثيل/ايثانول (6/ 3/ 1) من التأكد من وجود الكركمين في مستخلص الكركم في حين اثبتت هذه التقنية عن احتواء المستخلصات المتحصل عليها بكروماتوغرافيا العمود احتواء النباتات المدروسة على الكركمين بنسب ضعيفة و هو ما اكده التحليل الكمي بالأشعة فوق البنفسجية.

الكلمات المفتاحية: الكركم، حمضيات، القرفة، الرمان، تحسين شروط الاستخلاص، الكركمين.

Abstract

This work aims to the optimization of curcumin extraction from turmeric rhizomes, cinnamon, orange and pomegranate peel, and lemon zest by two methods: extraction by cold maceration using ethanol and acetone, the second by Soxhlet with methanol as a solvent.

The curcumin extracts obtained by both methods (maceration and Soxhlet), are in paste form, varying in color from dark brown, orange and light yellow with a characteristic odor of the extracted plant. The yield of extracts ranges from 1.74-15.39%, of which turmeric extract exhibits the highest yield followed by pomegranate and cinnamon extract. Extraction of curcumin from turmeric and orange by both methods shows that the highest level of curcumin for turmeric is that obtained by cold maceration using ethanol (15.388%). On the other hand, for orange, is that obtained by methanol using the Soxhlet method (13.651%).

CCM chromatographic analysis using the system (Hexane / ethyl acetate / ethanol (6/3/1) allows the identification of curcumin in the extract of turmeric reflected by light yellow spots. CCM chromatographic analysis of the fractions obtained from the separation by column chromatography under the above conditions reveal that the ethanolic, acetone and even methanolic fractions separated from five plants contain curcumin. These results are confirmed quantitatively by UV- Visible analysis. With low curcumin content and variable absorbance, turmeric and orange have the highest amounts.

Keywords: *Turmeric, citrus, cinnamon, pomegranate, optimization, Extraction conditions, Curcumin.*

Résumé

Ce travail vise à l'optimisation d'extraction de curcumine à partir de rhizomes de curcuma, l'écorce d'orange et de grenade, de cannelle et de zeste de citron par deux méthodes : extraction par macération à froid en utilisant l'éthanol et l'acétone et par Soxhlet avec le méthanol comme solvant.

Les extraits de curcumine obtenus par les deux méthodes (macération et par Soxhlet), sont sous forme pâte, de couleur varie de marron foncé, orange et jaune clair avec une odeur caractéristique de plante extraite. Le rendement des extraits varie de 1.74-15.39 %, dont l'extrait de curcuma présent le rendement le plus élevée suivie de l'extrait de grenade et de cannelle. L'extraction de curcumine de curcuma et d'orange par les deux méthodes montre que le taux le plus élevée en curcumine pour le curcuma est celui obtenu par macération à froid en utilisant l'éthanol (15.388%). Par contre pour l'orange, est celui obtenu par méthanol en utilisant la méthode de Soxhlet (13,651%).

L'analyse chromatographique CCM en utilisant le système (Hexane/ acétate d'éthyle / éthanol (6 / 3 / 1) permet l'identification de curcumine dans l'extrait du curcuma traduit par des taches jaunes claires. L'analyse chromatographique CCM de fractions obtenues lors de la séparation par chromatographie sur colonne dans les conditions précédentes révèle que les fractions éthanoliques, acétoniques et même méthanoliques séparées de cinq plantes contiennent de la curcumine. Ces résultats sont prouvés par l'analyse quantitative à l'aide de spectrophotomètre UV-Visible avec des faibles teneurs en curcumine et des absorbances variables. Le curcuma et l'orange présentent les quantités les plus élevée.

Mots clés : *Curcuma, agrumes, cannelle, grenade, optimisation, Conditions d'extraction, Curcumine.*

Sommaire

Liste des Abréviations	I
Liste des Figures.....	II
Liste des Tableaux	III
Introduction générale.....	01

Chapitre I : Les curcuminoïdes et la curcumine

I.1 Généralité sur les curcuminoïdes et la curcumine.....	04
I.2 Les curcuminoïdes.....	05
I.2.1 Structure chimique de la curcuminoïdes.....	06
I.2.2Extraction des curcuminoïdes.....	07
I.3 La curcumine	07
I.3.1 Morphologie et structure de la curcumine.....	07
I.3.2 Propriétés physico-chimiques de la curcumine.....	08
I.3.3 La solubilité.....	09
I.3.4 Usages de curcumine.....	10
I.3.5 Les bienfaits de la curcumine.....	11

Chapitre II: Généralités sur les plantes investigués

II.1 <i>Curcuma Longa L.</i>	13
I.1.1 Historique.....	13
II.1.2 Présentation de la plante <i>Curcuma</i>	14
II.1.4 Classification systématique du <i>Curcuma longa L.</i>	14
II.1.5 Description de la plante.....	15
II.1.6 Composition chimique.....	16
II.1.7 Utilisation et domaines d'application de <i>Curcuma</i>	17
II.2. L'orange.....	18
II.2.1. Généralités.....	18
II.2.2. Classification systématique d'orange.....	19
II.2.3. Composition chimique d'orange et ses différentes parties.....	19
II.2.4. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques.....	20
II.3. Le citron <i>Citrus limon</i>	20
II.3.2 Taxonomie.....	21
II.3.3. Description botanique.....	21

II.3.4. Les Principaux constituants.....	22
II.3.5. Propriétés et Usages de citron.....	23
II.4. <i>Cinnamomum verum</i> syn. <i>C. zeylanicum</i> (Lauracées).....	24
II.4.1 Présentation et origine.....	24
II.4.3. Classification systématique.....	24
II.4.4.1 Description botanique de la Cannelle.....	25
II.4.5.1 Composition chimique.....	25
II.4.6 Usages traditionnels et courants.....	26
II.5 <i>Punica granatum</i> Grenadier (Lythracées).....	26
II.5.1 Histoire et origine.....	26
II.5.2 Classification botanique.....	27
II.5.3 Description botanique.....	27
II.5.4. Composition chimiques.....	28
II.5.5 Propriétés pharmacologique, biologiques et usages de la grenade.....	29

Chapitre III : Les procédés d'extraction

III.1.1 Les procédés d'extraction utilisés.....	30
III.1.2 Extraction solide-liquide.....	30
III.1.2.1 La macération.....	30
III.1.2.2 Extraction par appareillage soxhlet.....	31
III.2 Technique d'analyse.....	32
III.2.1 Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	32
III.2.2 La chromatographie sur colonne.....	33
III.2.3 Spectroscopie UV / visible.....	34

Chapitre IV: Matériels et méthodes

IV.1 Matériels et Méthodes.....	36
IV.1.1 Matériel de laboratoire.....	36
IV.1.2 Matériel végétal.....	36
IV.2. Extraction de curcumine.....	37
IV.2.1 Extraction par macération à froid.....	37
IV.2.2 Extraction par appareillage Soxhlet.....	38
IV.3 Préparation le curcumine pur.....	39

IV.4 Etude qualitative.....	40
IV.4.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)	40
IV.4.1.1 Les principaux éléments du (CCM)	40
IV.4.1.2 Développement du Chromatogramme.....	40
IV.4.1.3 Calcul du rapport frontal (Rf)	41
IV.4.2 Chromatographie sur colonne.....	41
IV.4.2.1 Les principaux éléments de la chromatographie sur colonne.....	42
IV.5.1. L'analyse par Spectroscopie UV-Visible	43

ChapitreV: *Résultats et discussions*

V.1. Propriétés organoleptiques.....	45
V.2. Rendement d'extraction de la curcumine.....	47
V.3. Analyse par chromatographie préparative.....	48
V.3.1. Chromatographie sur couche mince CCM.....	48
V.3.2. Chromatographie sur colonne.....	49
V.3.2.1. Analyse par Chromatographie sur couche mince des fractions séparées.....	49
V.4. Analyse quantitative par spectrophotomètre UV-Visible.....	51
Conclusion générale.....	54

Références bibliographiques

Liste des Abréviations

APG: AngiospermsPhylogeny Group.

CE: Commission établissant des critères de pureté spécifiques pour les colorants pouvant être utilisés dans les denrées.

FAO: L'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture/

GA: Gallium.

GRAS: Generally recognized as safe

IR: Infrarouge

JECFA: (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives)

OMS: Organisation mondiale de la santé

Os: Osmium.

pH: potentiel d'hydrogène.

Rf: Rapport frontal

UV: Ultra-violet.

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure I.1	Structure de la curcumine	04
Figure I.2	La plante <i>Curcuma Longa</i> dont dérive la curcumine et ses structures chimiques	05
Figure I.3	Structures chimiques des curcuminoïdes	06
Figure I.4	La curcumine en poudre	07
Figure I.5	Tautomérie céto-énolique de la curcumine; formes dicétone (en bas) et énoles (en haut)	08
Figure I.6	Isolement, extraction, structure, usages et changement de couleur en fonction du pH	09
Figure II.1	Quelques espèces de <i>Curcuma</i> source de curcumine	15
Figure II.2	Fruit d'Orange	19
Figure II.3	Les différents organes de l'espèce Agrumes limon.	22
Figure II.4	Les feuilles et l'écorces de cannelle de chine	25
Figure II.5	Différents parties de grenadier	28
Figure III.6	Appareil de Soxhlet	31
Figure III.7	Schéma d'une CCM	33
Figure IV.1	Orange	36
Figure IV.2	la cannelle	36
Figure IV.3	le citron	36
Figure IV.4	La grenade	37
Figure IV.5	Curcuma	37
Figure IV.6	Schéma d'extraction de curcumine de cinq plantes par macération à froid	52
Figure IV.7	Schéma d'extraction de curcumine de cinq plantes par Soxhlet.	38
Figure IV.8	Etapas de l'extraction de curcumine par montage de Soxhlet.	39
Figure IV.9	Curcumine Commerciale	40
Figure IV.10	Solution decurcumine.	40
Figure IV.11	Identification de curcumine dans les extraits par CCM	41
Figure IV.12	Séparation par chromatographie sur colonne	42
Figure IV.13	Spectrophotomètre UV-Visible	43
Figure V.1	Rendement d'extraction de curcumine par éthanol dans les plantes étudiées.	47
Figure V.2	Effet de solvant et la méthode d'extraction sur le rendement en curcumine extraite de curcuma et d'orange.	48
Figure V.3	Résultats d'analyse par chromatographie sur couche mince	48
Figure V.4	Les Fractions obtenus lors de séparation par chromatographie sur colonne.	49
Figure V.5	Résultats d'analyse par chromatographie CCM pour les fractions: C, E et A.	50
Figure V.7	Quantité de curcumine dans les extraits.	51

Liste des Tableaux

N° de Tableau	Titre	Page
Tableau II.1	Les caractéristiques d'orange	18
Tableau V.1	Les propriétés des extraits obtenus par macération à froid.	45
Tableau V.2	Les propriétés des extraits obtenus par méthode Soxhlet	46
Tableau V.3	Les résultats de manipulation	49
Tableau V.4	Les valeurs de R_f de chaque fraction	50
Tableau V.5	L'Absorbance de fractions de curcumine par UV	52

Introduction Générale



De nos jours, la tendance de l'utilisation des produits naturels issus des plantes est en pleine croissance grâce à leurs effets thérapeutiques, leur abondance et ils sont sans effets secondaires [1]. Les polyphénols sont l'un des métabolites très recherchés car elles sont généralement dotées des propriétés pharmacologiques et biologiques intéressantes (antioxydantes) en vue de leur utilisation dans l'industrie pharmaceutique, des additifs alimentaires etc

Les polyphénols constituent une famille de molécules très répandues dans le règne végétal, on les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits, sont des métabolites secondaires connus par leur efficacité antioxydante [2].

La curcumine est un polyphénol, présent dans de nombreuses espèces végétales et possède des propriétés très diverses. Les coumarines du mélilot (*Melilotus officinalis*) et du marronnier d'Inde (*Aesculus hippocastanum*) contribuent à fluidifier le sang alors que les furanocoumarines comme le bergaptène, contenu dans le cèleri (*Apium graveolens*), soignent les affections cutanées et que la khelline de *Ammi visnaga* est un puissant vasodilatateur coronarien. La curcumine est identifiée comme un principe actif du curcuma, cette épice est largement consommée être demandée compte tenu de ses propriétés pharmacologiques et biologiques (antioxydantes, antimicrobiennes...) et sa valeur économique [2].

C'est dans ce contexte, que notre travail de mémoire s'inscrit visant à étudier ce métabolite (curcumine). Nous avons essayé d'extraire la curcumine de cinq plantes : de rhizomes de curcuma, d'écorce d'orange et de grenade, de cannelle et de zeste de citron en utilisant l'extraction solide-liquide à froid (macération) et à l'aide de Soxhlet. Les extraits obtenus sont caractérisés par chromatographie sur couche mince CCM et chromatographie sur colonne puis dosés par spectrophotomètre UV-Visible après la détermination de leurs propriétés organoleptiques. Pour cela, ce travail est divisé en cinq chapitres: Le premier présente des généralités sur les curcuminoïdes et la curcumine, le deuxième est un aperçu général sur les plantes investiguées et leurs effets thérapeutiques. Le troisième présente des généralités sur les méthodes de séparation et d'analyse chromatographiques et spectrales utilisées. Le quatrième chapitre décrit les matériels et les méthodes utilisées dans l'extraction, la séparation et l'analyse de curcumine, suivie de discussion des résultats obtenus et en termine par une conclusion générale.

Chapitre I :

Les curcuminoïdes et la
curcumine

I.1. Généralité sur les curcuminoïdes et la curcumine

La découverte de la curcumine présente dans le curcuma parmi les autres curcuminoïdes, remonte au milieu du siècle des lumières quand Vogel et Pelletier publient en 1815 dans le Journal de pharmacie et sciences accessoires l'isolement de la « matière colorante jaune » des rhizomes de *Curcuma* dans leur essai intitulé « Examen chimique de la racine de Curcuma ». A la suite de quoi ils ont nommé cette matière curcumine [1]. Vogel a affirmé avoir créé de la curcumine synthétique pure en 1842, mais il n'a pas publié la formule exacte. Milobedzka et Lampe n'ont identifié la composition chimique de la curcumine qu'en 1910, après qu'un certain nombre de conjectures aient été publiées, identifiait la structure chimique de la curcumine comme le diféruoylméthane ou (1E, 6E)-1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,6-heptadiène-3,5-dione (Figure I.1). Ils ont publié leur synthèse en 1913 puis Srinivasan sépare et quantifie les composants du curcuma par chromatographie [3].

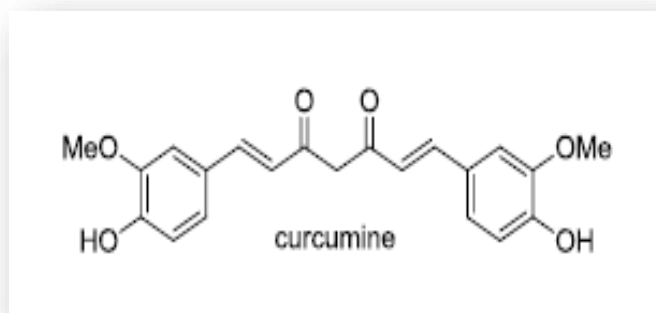


Figure I.1 : Structure de la curcumine [4].

Bien que le curcuma, principale source de curcumine, ait été largement utilisé comme épice dans le monde, ce n'est que dans la première moitié du XXe siècle que ses propriétés biologiques ont été étudiées. Les propriétés antibactériennes et antifongiques de la curcumine ont été décrites par Schraufstatter et Brent en 1949 [3]. Où ils ont prouvé leur efficacité contre les souches *Staphylococcus aureus*, *Salmonella paratyphus*, *Mycobactérie tuberculosus* et également sur un champignon micromycète tellurique *Trichophyton gypseux* [3].

D'après la base de données en ligne Pub Med®, Seule 5 publications sur la curcumine ont été publiées en 20 ans depuis sa découverte. La curcumine a suscité l'intérêt des communautés manufacturières et scientifiques à partir des années 1970. Ce n'est que récemment que des

propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes ont été identifiées. Sa fonction anticancéreuse a été découverte dans les années 1980 dans une variété de modèles *in vitro* et *in vivo* [4].

La curcumine s'est actuellement avéré innocuité selon des essais cliniques. L'Administration d'alimentation et médicament des Etats Unis a approuvé la curcumine en tant que composé généralement sécurisé (GRAS) dans son programme de notification alimentaire des adjuvants culinaires débuté en 1998[4].

I.2. Les curcuminoïdes :

Les curcuminoïdes sont les composés les plus actifs présents dans le curcuma (environ 5% du poids de la racine séchée), et ces molécules sont responsables non seulement de la couleur jaunâtre de l'épice, mais également des bienfaits pour la santé associés à son utilisation. Les curcuminoïdes sont une classe de trois composés phénoliques qui comprennent la curcumine(75%), la déméthoxycurcumine et la bisdéméthoxycurcumine qui appartient au groupe diféruloylméthane(Figure I.3). Ils possèdent diverses propriétés pharmacologiques, y compris des propriétés antithrombotiques, hypocholestérolémies et antioxydantes (plusieurs fois supérieures à celle de la vitamine E) [5].

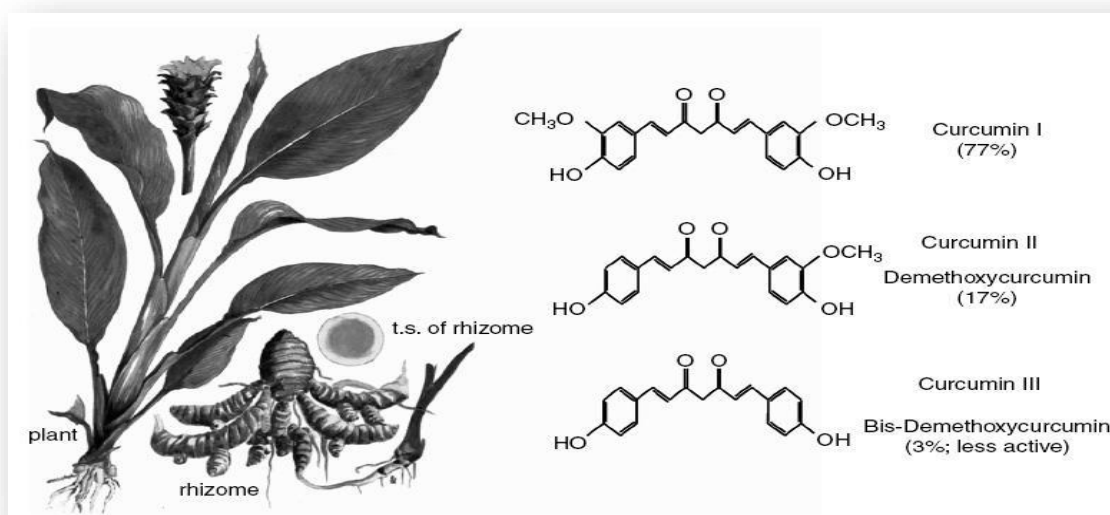


Figure I.2 :La plante *Curcuma Longa* la source de curcumine et ses structures chimiques [5].

Les curcuminoïdes et la curcumine représentent l'un des substances actives les plus importants du curcuma, c'est-à-dire des molécules qui ont une véritable influence sur ses propriétés. Ils ont l'avantage d'être liposolubles, et ainsi de se dissoudre facilement dans les

huiles et les corps gras. Composant majeur du rhizome de curcuma, Il est à noter que les additifs alimentaires améliorent leurs apports en curcuminoïdes et / ou en curcumine. Une substance riche en curcuminoïdes sera également riche en curcumine, car cette dernière est un composant majeur de la première. Une substance riche en curcumine est également une promesse d'efficacité et de bienfaits, dont la curcumine est responsable de la majorité des propriétés reconnus au curcuma [5].

I.2.1. Structure chimique de la curcuminoïdes :

Les curcuminoïdes sont une concoction de curcumine: un différuoylméthane [1,7-bis (4-hydroxy-3-méthoxyphényl) -hepta-1,6-diène-3,5-dione] mélangée avec ses deux dérivés, la déméthoxy [4-hydroxycinnamoyl- (4-hydroxy-3-méthoxycinnamoyl) méthane] et bis-déméthoxy curcumine [bis- (4-hydroxy cinnamoyl) méthane], de formules chimiques brut $C_{21}H_{20}O_6$, $C_{20}H_{18}O_5$ et $C_{19}H_{16}O_4$ respectivement (Figure I.3)[6].

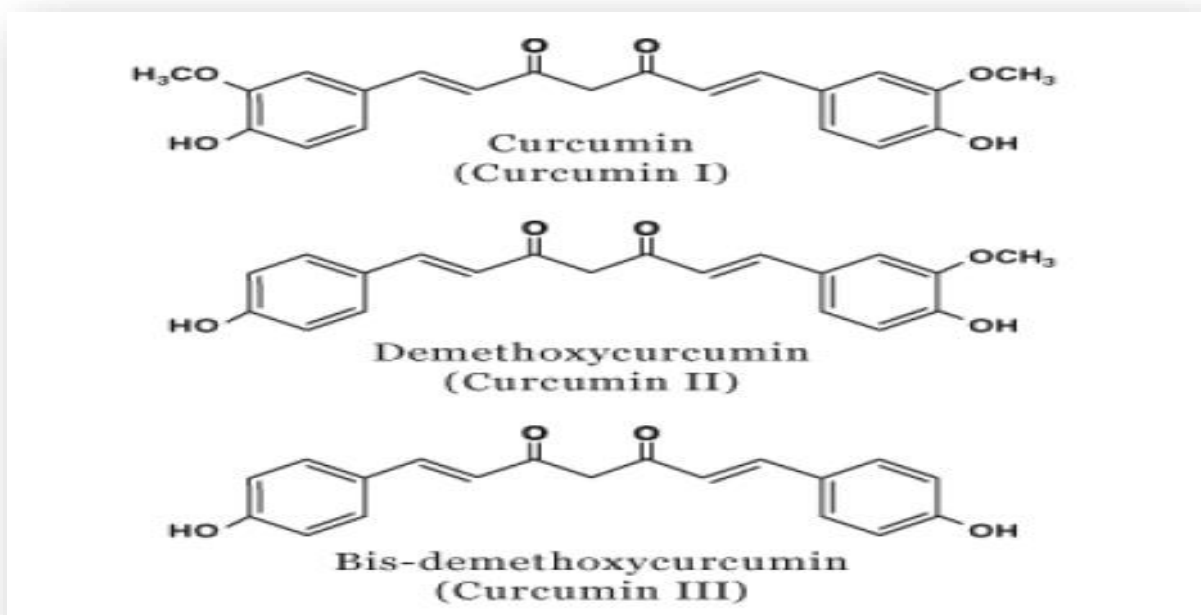


Figure I.3: Structures chimiques des curcuminoïdes [7].

I.2.2. Extraction des curcuminoïdes :

Les curcuminoïdes sont traditionnellement dérivés de la poudre de rhizome en utilisant des solvants organiques. L'acétone, le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol sont répertoriés comme solvants utilisables dans les normes du JECFA (Comité mixte FAO / OMS d'experts des additifs alimentaires)[8].L'acétone, le dioxyde de carbone, l'acétate d'éthyle, le dichlorométhane, le n-butanol, le méthanol, le fructose et l'hexane sont autorisés en vertu de la directive européenne 95/45 / CE.

La curcumine est extraite du concentré et cristallisée. Certains laboratoires vendent des extraits concentrés de curcuma qui ont été titrés en curcumine par évaporation d'une solution hydro-alcoolique à faible concentration[9].

I.3.La curcumine :

La curcumine est à la pointe des études de recherche puisqu'elle a été reconnue comme le principal responsable des propriétés bénéfiques de la plante. Étant donné que la curcumine est le composé clé de *Curcuma Longa L*, doué des effets thérapeutique et physico-chimique [10].

I.3.1. Morphologie et structure de la curcumine :

La curcumine, le composé majoritaire du curcuma, est un colorant naturel jaune orange. C'est un heptanoïde dipryl, une sorte de phénol naturel qui donne à certaines plantes leur couleur jaune (figure I.4) [11].



Figure I.4 :La curcumine en poudre [12].

Le composé existe sous de nombreuses formes tautomères, y compris la forme cétoène et les deux formes correspondantes d'énol. En termes de stabilité énergétique, la phase inuline est la plus stable dans le solide et la solution[11].

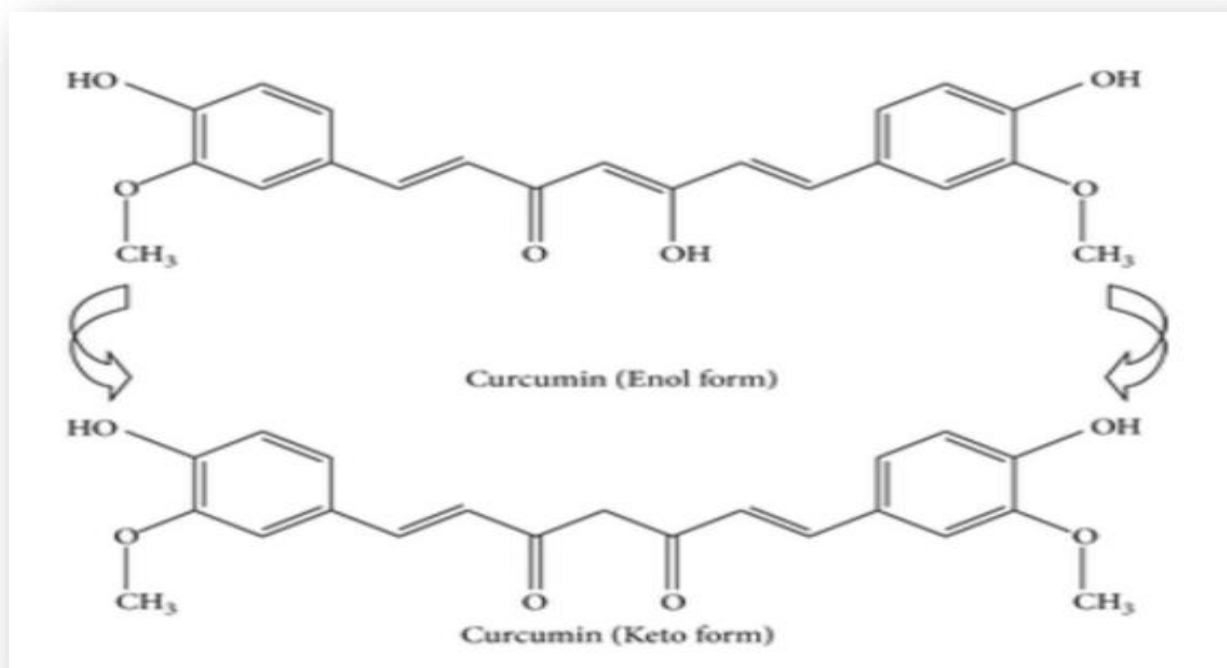


Figure I.5 : Tautomérie céto-énolique de la curcumine; formes dicétone (en bas) et énol (en haut) [13].

I.3.2. Propriétés physico-chimiques de la curcumine :

La curcumine a été extraite pour la première fois en 1815 mais obtenue sous forme cristalline en 1870 [14]. Sa structure féruloylméthane a été élucidée en 1910[15].

La curcumine est une poudre jaune-orange soluble dans les solvants polaires aprotiques et protiques dans l'ordre de solubilité suivant: acétone > 2-butanone > acétate d'éthyle > méthanol > éthanol > 1,2-dichloréthane > 2-propanol > éther diéthylique > benzène > hexane mais insoluble dans l'eau et l'éther. La curcumine a un point de fusion de 183°C, une formule chimique de $C_{21}H_{20}O_6$ et un poids moléculaire de 368,37 g/mole.

La spectrophotométrie montre que l'absorption la plus élevée dans le méthanol est à 430 nm et dans l'acétone à 415-420 nm et dans l'éthanol à 210- 400 [16]. Une solution de curcumine à 1% comprend 1650 unités d'absorbance.

La curcumine a une teinte jaune vif à pH acide et une couleur rouge à pH alcalin. (Figure I.6). En revanche, elle est stable sous sa forme moléculaire mais insoluble dans les milieux aqueux légèrement acides [17].

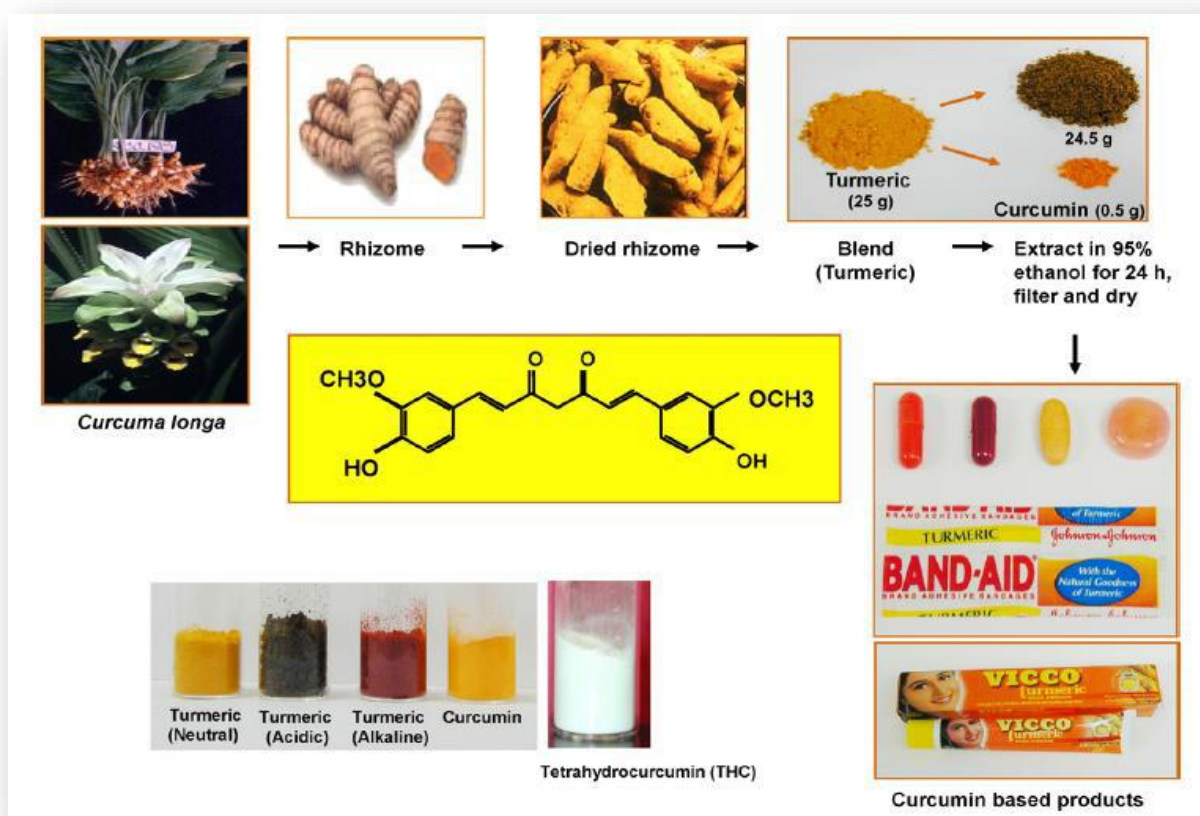


Figure I.6: Isolement, extraction, structure, usages et changement de couleur en fonction du pH [18].

I.3.3. La solubilité :

La curcumine en solution méthanolique présente une large absorption caractéristique UV-visible à environ 300-500 nm avec une bande d'absorption maximale à 424 nm, et une bande d'absorption faible à 262 nm tandis que dans le DMSO, la bande d'absorption maximale à 435 nm et une bande d'absorption faible à 268 nm [19].

Le spectre IR de la curcumine indique une large bande comprise entre 3200 et 3500 cm^{-1} , celle-ci est due à ν (OH) phénolique. La bande d'absorption importante à 1629 et 1603 cm^{-1} correspond aux mélanges de vibrations d'étirement de ν (C = C) et de ν (C = O) [19].

I.3.4. Usages de curcumine :

a- Alimentaire :

La curcumine est couramment utilisée pour colorer une grande variété d'aliments; le projet de norme générale Codex sur les additifs alimentaires contient une liste détaillée de ces aliments. La curcumine est recommandée pour une utilisation dans des ingrédients coûteux tels que les graisses, les huiles et les graisses. Les émulsions, la crème glacée comestible, les produits à base de fruits et légumes, la confiserie, les produits céréaliers, les produits de boulangerie, la viande et les produits à base sont tous des exemples de crème glacée comestible. Viande et produits de la pêche, œufs et ovo produits, herbes, soupes, sauces et produits protéiques Aliments destinés à des fins diététiques spécifiques, collations, plats préparés et aliments composites. Selon le type d'aliment, les niveaux d'utilisation de la curcumine varient de 5 à 500 mg / kg [20].

b- Médicinal :

Il a été récemment démontré que la curcumine avait des propriétés thérapeutiques et activités biologiques intéressantes pour la santé humaine, C'est un puissant antioxydant (beaucoup plus actif que la vitamine E) et antiseptique. Elle réduit le cholestérol et freine la déminéralisation osseuse, anti-inflammatoire et antimicrobienne dans des expériences *in vitro* et *in vivo* [21]. Il a également été démontré que ce produit naturel inhibe la croissance des cellules tumorales *in vitro* et prévient la tumorigenèse *in vivo* [21]. De plus, ce composé a des propriétés anticancéreuses en arrêtant l'activation de la tumeur par les cancérogènes et en diminuant la promotion du cancer [21]. Cela pourrait comprendre son impact chimio préventif au stade de la promotion de la tumeur [21].

c-En Chimie :

La curcumine est utilisée comme référence dans les titrages d'indicateurs complexométriques pour calculer la proportion de bore dans un processus connu sous le nom de méthode à la curcumine, dans lequel la curcumine réagit avec l'acide borique pour produire de la rosocyanine, un composé rouge[22].

I.3.5. Les bienfaits de la curcumine :

- ✚ La curcumine peut inhiber le développement de cellules de la vessie cancéreuses in vitro à des concentrations allant de 10 à 25 μM et provoquer l'apoptose [22].
- ✚ La curcumine, lorsqu'elle est mélangée avec du turmérone, est réputée avoir des propriétés stimulantes pour le cerveau. C'est une molécule intrigante avec le potentiel de régénérer les cellules cérébrales blessées dans les troubles neurologiques. Plus précisément, dans la maladie d'Alzheimer, elle endommage les plaques protéiques responsables de la dégénérescence de certaines cellules cérébrales, tout en empêchant leur formation [17].
- ✚ Elle a des effets anti-inflammatoires et peut être utilisée pour traiter des conditions telles que le psoriasis, qui est principalement causée par un système immunitaire hyperactif. Il a un effet positif sur la réponse inflammatoire chez la souris [23].
- ✚ 4 paramètres qui devraient raisonnablement pousser un sportif à utiliser la curcumine au quotidien :
 - La diminution de l'inflammation,
 - La diminution du stress oxydatif,
 - La diminution du dysfonctionnement mitochondrial.
 - L'augmentation de la sensibilité à l'insuline ou de la captation du glucose [23].

Chapitre II :

Généralités sur les plantes investigués

II.1. *Curcuma Longa L*

II.1.1. Historique

Marco polo (1280 après JC) désigne le curcuma comme safran indien utilisé pour les tissus mourants. Il est utilisé comme médicament, produit de beauté, épice de cuisson et colorant en Inde depuis au moins 6000 ans, selon des preuves enregistrées. Il était apparemment utilisé pour adorer le Soleil pendant l'ère solaire de l'Inde, lorsque Lord Ram Chandra marchait sur la Terre. Il a été mentionné dans l'Artharveda de l'Inde [24].

Les moines bouddhistes ont utilisé le curcuma comme colorant pour leurs robes depuis au moins 2000 ans. Il a été décrit pour la première fois dans une plante assyrienne vers 600 avant JC, et il a été mentionné par Discorides dans la plante qui était l'herbe de l'Ouest redécouverte il y a 700 ans par M. Polo, et il est utilisé dans le poison mortel traditionnel de la vipère [24].

En Chine, il a été mentionné dans le Pent-Sao du 7ème siècle. Pour au moins 1000 ans les chinois ont utilisés le curcuma pour renforcer le sang et diminuer la pression artérielle, pour nettoyer la douleur abdominale et la stagnation des hommes, femmes et enfants. Ils le considèrent comme l'une des meilleures herbes pour les femmes parce qu'il stimule l'utérus et élimine la stagnation menstruelle. Dans les années 1870, les chimistes ont découvert le curcumala poudre de racine jaune orangé est devenue brun rougeâtre lorsqu'elle a été exposée à des produits alcalins [24].

Herboristes européens et américains jusqu'au 20e siècle avait peu d'intérêt pour le curcuma. Dans une plante occidentale du début du XXe siècle, le livre de Maude Grève A Modern Herbal, dans lequel elle donne une description botanique et les constituants de l'herbe comme si l'herbe était d'une certaine importance, mais puis sous des actions et des utilisations médicinales dit-elle : « *Curcuma* est un stimulant aromatique sauvage rarement utilisé en médecine sauf comme colorant. Il a été une fois un remède contre la jaunisse. Son utilisation principale comme colorant, dans la fabrication de poudre de curry. Comme un substitut de la moutarde et forme une fois des ingrédients des condiments de bovins. Il a été une fois un remède pour l'ictère. Le papier de *curcuma* est utilisé comme test pour les alcaloïdes et l'acide boronique » [24].

Selon Daniel B. Mowrey, les recherches sérieuses sur le *curcuma* ont commencé depuis 1920. Les propriétés thérapeutiques de l'huile essentielle de curcuma étaient dues à leur richesse en sesquiterpènes, qui ont été isolés en 1926 [24].

II.1.2. Présentation de la plante Curcuma

Le rhizome séché de *Curcuma longa* L. également connu sous le nom de *curcuma* appartient à la famille des *Zingiberaceae*. Les Curcuminoïdes sont les composants actifs du rhizome séché de *C. longa* L. qui est largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales du monde, à savoir l'Asie et l'Amérique centrale [25].

Étymologiquement, le terme « *curcuma* » est d'origine irano-indienne. Il vient du mot sanscrit *kartoumaqui*, qui a été traduit par *kurkumen* en persan ancien, *kourkoumen* en arabe et *curcuma* en latin [26]. Sauf en anglais qui le désigne sous le nom de *turmeric*. C'est d'ailleurs la langue anglaise qui a conservé l'origine de son appellation en latin médiéval, *terra mérita* (terre mérite) par le mot "turmeric". Sa couleur jaune intense le fait parfois nommer, bien à tort, *safran* ou *safran des Indes* [26]. De même, son nom chinois *jianghuang*, signifie "gingembre jaune", une allusion au fait qu'il est de la même famille botanique de gingembre et à la couleur éclatante de son rhizome.

II.1.3. Classification systématique du *Curcuma Longa* L [26,27].

Curcuma, selon la classification APG III (Angiosperms Phylogeny Group) appartient à :

Règne : Plantae

Sous embranchement : Magnoliophyta

Classe : Liliopsida

Ordre : Zingiberales

Famille : Zingiberaceae

Genre : *Curcuma*

Espèces : *Curcuma longa* L

Le genre *Curcuma* regroupe de nombreuses espèces ornementales près de 80 espèces, tandis que d'autres se sont démarquées par l'utilisation de leur rhizome, aux propriétés culinaires et médicinales. Parmi ces espèces, *Curcuma longa* Linné est de loin le plus utilisé et par conséquent le plus étudié, mais on retrouve également *Curcuma xanthorrhiza* Roxburgh dit

temoelawak et la zédoaire, décritesous le nom de *Curcuma zedoaria* Roscoe ou *Curcuma zerumbet* Roxburgh (Figure II.1) [26, 27].

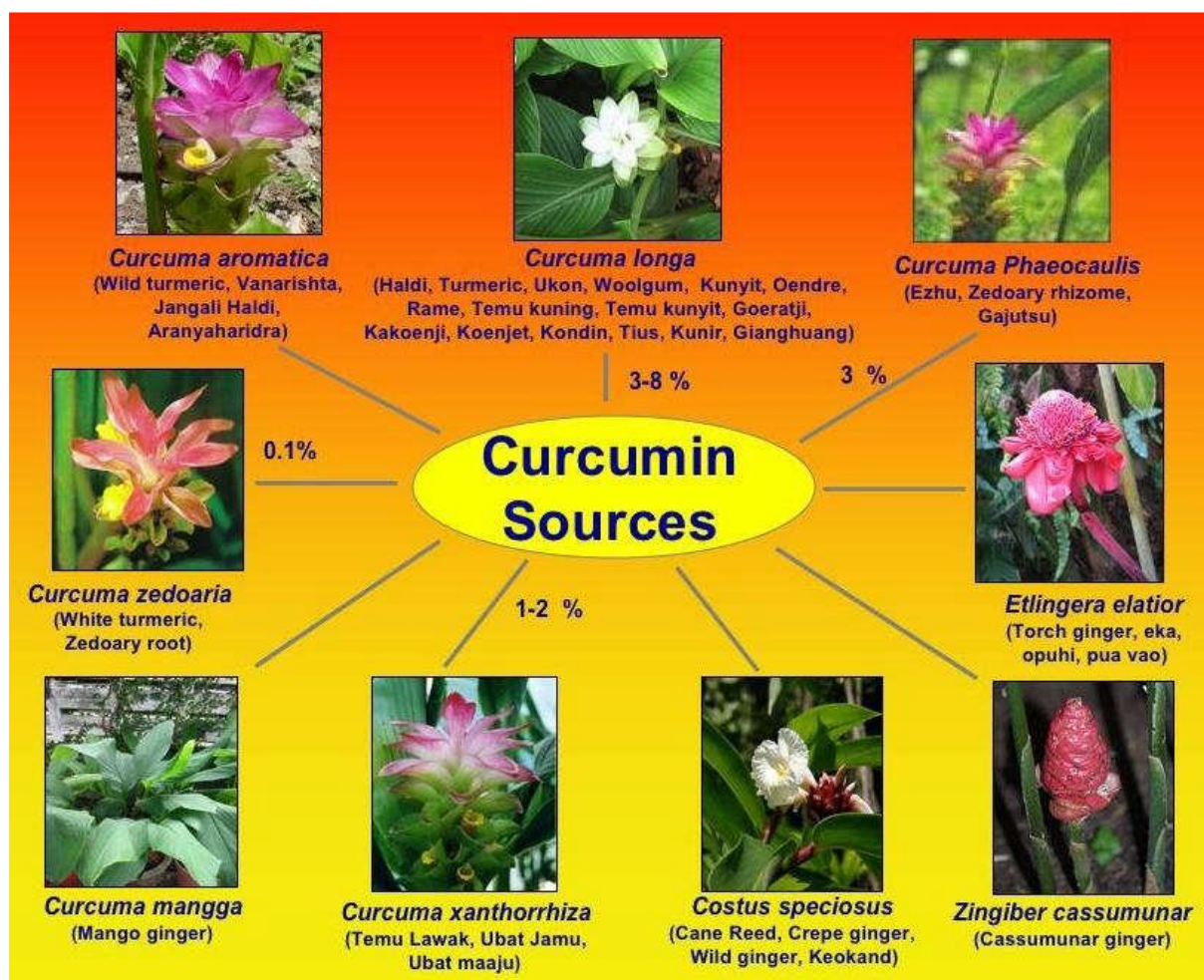


Figure II.1 : Quelques espèces de *Curcuma* source de curcumine [27].

II.1.4. Description de la plante

C'est une plante herbacée, vivace et robuste. Elle peut atteindre 60 cm à 1 m de hauteur [28, 10]. Les feuilles sont oblongues, vertes, alternes, caduques et grandes, d'environ 60 cm de long pour 10 à 15cm de large. Elles présentent un pétiole engainant portant un limbe penninervé. Pendant la saison sèche, ces feuilles dépérissent et laissent apparaître les tiges florales [29, 25]. Le rhizome est charnu, écailleux, tubéreux et aromatique. A maturité, il présente de nombreuses ramifications plus ou moins longues. Il est facilement distingué par sa couleur jaune orangé[29]. Les fleurs sont hermaphrodites en général, irrégulières. Elles ont des couleurs jaunes pâles et regroupées en inflorescences coniques sous forme d'épis, protégées par des grandes bractées à dominances blanches. Elles sont composées de quatre

éléments : le calice, courte, cylindrique, finement dentée, comportant trois sépales pétaloïdes. La corolle à tube cylindrique et à segment ovale ou oblongue dont le postérieur est plus longue et plus concave. L'androcée est réduit en étamine fertile. Le gynécée possédant trois carpelles [29, 25].

II.1.6. Composition chimique

Contrairement aux principaux métabolites des protéines, des glucides et des lipides, les plantes médicinales ont des métabolites dits «secondaires». Ces composés appartiennent à une variété de groupes chimiques (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques, etc.) qui sont largement distribués dans les plantes mais peuvent parfois s'accumuler à des niveaux élevés [29].

Le curcuma généralement possède des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes et anticarcinogéniques prouvés par la littérature. De ce fait, récemment, plusieurs équipes de chercheurs soulignent l'importance de quantifier les différentes sources de *curcuma*. [30] ont analysé par chromatographie de haute performance (HPLC) 28 épices montrent que la poudre de curcuma contient jusqu'à 3,14 % de curcuma, alors que la poudre de curry ne contient que des petites quantités avec une très grande variabilité. L'analyse chromatographique en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse CPG/ MS permet d'identifier 4 composants majeurs (ar-curcuméne, ar-turmérone, α -turmérone et β -turmérone) dans le *Curcumasichuanensis* X. Chen, poussant dans le Sichuan (Chine), destiné à un usage thérapeutique. [31] ont identifié 44 composants dans l'huile essentielle représentant 87,1% des pics chromatographiques totaux. Les principaux composés retrouvés sont l'épicurzérénone (26,9 %), le germacrone (12,4 %), l'isocurcuménol (9,7 %), le β -élémane (6,4 %) et le curzérène (6,2 %). Les sesquiterpènes représentent 85,4 %, soit 55 fois les monoterpènes (1,5 %). En étudiant 3 types de rhizomes différents, l'équipe de Yang [31] ont identifié 11 composants (curcuménone, curcuménol, néocurdione, curdione, isocurcuménol, furanodiénone, curcumol, germacrone, curzérène, furanodiénone et β -élémane) analysés par chromatographie en phase liquide.

Le rhizome contient de la cellulose, de la lignine, des protéines, des sels minéraux, des résines, des vitamines, des minéraux et 4 à 14 % d'huile essentielle jaune orangé volatile (composés peu polaires, solubles dans les "solvants organiques"), une huile riche en monoterpènes : α -phellandrènes

(1%), des sesquiterpènes : zingibérène, atlantone (25 %), des cétones sesquiterpènes 50-60 % ar-turmérone (environ 60 %), turmérone. Des pigments phénoliques appelés curcuminoïdes : diféruloylméthane ou curcumine: de 0,3 à 5,4 %, bis-(4-hydroxy-cinnamoyl)-méthane (bisdesméthoxycurcumine), 4-hydroxycinnamoylféruloylméthane (desméthoxycurcumine), dihydrocurcumine, certain dérivé asymétrique, a aussi été isolée et 2 à 9 % de composés colorés, les curcuminoïdes. Des Polysaccharides : un arabino-galactane dénommé « uconane A ». Des Glucides : Amidon : 28 % glucose, 12 % fructose, 1 % arabinose. La curcumine est le principal composé coloré (50-60 %). C'est le colorant E100, également appelé "natural yellow 3". [31]

II.1.7. Utilisation et domaines d'application de Curcuma

- Le curcuma a été utilisé pour traiter une variété de maux, y compris la jaunisse, le foie, les rhumatismes, la perte d'appétit, les ulcères diabétiques et les complications menstruelles. La curcumine est responsable de la plupart de ses effets [32].
- Cette plante est utilisée comme condiment depuis des millénaires. C'est également un des ingrédients des célèbres 'currys' leur donnant une couleur et odeur bien caractéristique [33].
- Le curcuma est utilisé côté cosmétique, avec ses propriétés bénéfiques pour la peau, il maintient l'élasticité de la peau et est utile contre le vieillissement. Il peut également être incorporé dans des masques aux noisettes, au cumin noir ou à l'huile de jojoba [34, 35, 36].
- Le curcuma est utilisé dans l'industrie textile comme pigment jaune orangé. Le coton, la laine et la soie sont teints, bien que leur teinture soit très sensible à la lumière et s'estompe facilement [34, 35, 36].

II.2. L'Orange

II.2.1. Généralités

L'orange (*Citrus sinensis*) un agrume, fruit comestible de l'oranger de la famille des *Rutacées*, une baie cortiquée, charnus, de forme sphérique à ovale à la peau orangée rougeâtre, épaisse et assez rugueuse contenant une huile essentielle d'odeur caractéristique. Ses branches sont épineuses et son feuillage est persistant, d'un vert soutenu. Les fleurs blanches de l'oranger sont particulièrement odorantes. Protégée par une peau épaisse, la chair de l'orange se divise en quartiers (Tableau II.1 et figure II.2). Son origine est encore incertaine : Asie du Sud-Est, Chine, Inde ou peut-être Viêt Nam. Il semblerait que le premier texte faisant mention de l'orange soit chinois et date de 2200 ans avant notre ère (le *Charaka-Samhita*, un livre médical de la littérature sanskrite). L'oranger aurait été introduit en Occident durant l'époque des grandes découvertes. D'abord, l'orange amère entre le X^e et le XIII^e siècle, puis l'orange douce à la fin du XV^e siècle.

L'orange est un fruit juteux, sucré, excitant et il contient de la vitamine C. On utilise ce fruit pour les salades de fruits, les confitures, ou pour consommer son jus. Cet hybride ancien est probablement un croisement entre le pamplemousse et la mandarine. Les orangers sont cultivés dans les régions tempérées et chaudes, comme les pays méditerranéens [37].

Orange ou « larenja » au Portugal, « tchina » dans les pays de Maghreb, « portokal » en Grèce. Elle est un agrume qui peut être aussi appelé *Hesperidium* [36]. Les caractéristiques de l'orange sont résumées dans le tableau ci-dessous:

Tableau II.1 : Les caractéristiques d'orange [36]

Parties de fruit		Caractéristique
Écorce	Épicarpe	Couleur orange.
	mésocarpe	Partie interne de couleur blanchâtre.
Pulpe		Juteuse diffère en couleur et en acidité selon les variétés représente 50 à 80 % du fruit.
Les pépins		Représente de 0 à 4 %.



Figure II.2 : fruit d'Orange.

II.2.2. Classification systématique d'orange:

L'orange fait partie du genre *Citrus* de la famille des *Rutacées*. Le genre *Citrus* contient deux espèces d'orange : *Citrus sinensis* correspond aux oranges douces et *Citrus aurantium* correspond aux oranges amères « bigarades » [38. 39].

Classification	Répartition systématique
Règne	Végétale
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Eudicotes</i>
Sous classe	<i>Sapindales</i>
Ordre	<i>Rosidae</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous famille	<i>Aurantoideae</i>
Tribu	<i>Citreae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus sinensis</i>

II.2.3. Composition chimique d'orange et ses différentes parties

L'orange comme son frère de même genre le citron est un fruit juteux par excellence, elle est riche en eau (plus de 85%). Cette eau de constitution contient, sous forme dissoute, la plupart des éléments nutritifs[41]. Elle contient 23 éléments nutritifs essentiels, y compris les glucides (40% de saccharose), de la vitamine C (40 à 80 mg/100 g), vitamines PP, B1, B2, B3, B9, E, provitamine A. Riche en calcium, fer, phosphore, cuivre, zinc, Manganèse, et également des

protéines, de l'acide citrique, et surtout en polyphénols. Il contient des composés énergétiques : Lipides concentrés dans les pépins, des fibres (2.4 %), elles ont l'originalité d'être riche en pectine (environ 50%), levures et lactobacilles indispensables à sa bonne digestion, substances aromatiques (aldéhydes, esters.....etc), des essences et odorantes, des pigments donnent à la pulpe sa couleur plus ou moins marquée jaune orangé pour les flavonoïdes et les caroténoïdes, Jaune pour les xanthophylles, rouge ou rouge violacé pour les anthocyanes [41].

Les écorces d'orange constituent un gisement riche en ingrédients nutritionnels (eau, protéines, sucres et minéraux) et en ingrédients fonctionnels (huiles essentielles, fibres, caroténoïdes, vitamine C, composés phénoliques) [42].

II.2.4. Intérêts nutritionnel et thérapeutiques

L'orange peut être consommée telle quelle ou sous forme de jus ou pour faire des confitures. En phytothérapie, on utilise le fruit pour faciliter la digestion et diminuer les flatulences. En infusion, il est censé dissiper les maux de tête et faire baisser la fièvre. Son jus stimule les défenses du système immunitaire. En Occident, on prescrit des huiles essentielles pour réguler le rythme cardiaque, calmer les palpitations, favoriser le sommeil [43]. Par ailleurs, elle aide à fixer le calcium sur les Os, et évite l'apparition des maladies telles que le scorbut et le Barlow.

II.3. Le citron (*Citrus limon*):

Le citron est un remède naturel majeur. Aliment courant doté de nombreuses vertus médicinales, il possède une teneur élevée en vitamine C, favorisant la résistance aux infections, ce qui en fait un allié précieux contre les rhumes et la grippe. On le consomme de façon préventive en cas de gastrites, de problèmes circulatoires et d'artériosclérose (épaississement des parois artérielles) [2].

Le citronnier serait originaire d'Inde cultivé en Europe dès le II^e siècle apr. J-C, il est aujourd'hui répandu dans les régions au climat méditerranéen et subtropical du monde entier. Les fruits se récoltent en hiver, quand leur teneur en vitamine C est maximale [2].

Le citron a d'abord été appelé «limon», un mot dérivé du limon italien, qui à son tour était dérivé du limon arabo-persan. En 1351, le mot est apparu pour la première fois en français. En

conséquence, le mot «limonade» a été inventé. Le mot «citron», qui a été inventé en 1398, est dérivé des latins agrumes, et il a finalement remplacé «limon» dans le langage moderne[44].

II.3.2. Taxonomie :

Classification botanique du citron [45] :

Plante	<i>Angiosperme dicotylédone</i>
Ordre	<i>Térébinthacées</i>
Famille	<i>Rutaceae</i>
Sous-famille	<i>Aurantioideae</i>
Sous tribu	<i>Citrinae</i>
Genre	<i>Citrus</i>
Espèce	<i>Citrus limon</i>

II.3.3. Description botanique :[44]

Le *Citrus limon* est un arbuste de taille moyenne qui atteint une hauteur de 3 à 6 m en pleine terre. Il est souvent taillé en culture, à la fois pour limiter sa taille et pour maximiser sa ramification. Ses feuilles sont persistantes, vert vif et brillantes, avec un dessous plus pâle, de forme grêlée et d'une longueur de 6 à 11 cm. Ils sont inversés, dentelés et ont parfois un pétiole ailé. Les feuilles ont un arôme agréable. Les fleurs sont minuscules, avec 5 pétales blancs d'apparence légèrement cireuse. Ils ont une odeur vraiment douce.

À maturité, les fruits sont verts et jaunissent. Les deux couleurs sont souvent affichées au magasin. Ce ne sont pas deux variétés ou plantes distinctes, mais plutôt un bel exemple de la même espèce et variété choisie à différents niveaux de maturité.



(A)

(B)



(C)

(D)

Figure II.3 : Les différents organes de l'espèce Agrumeslimon

A : fruit jaune (fruit mûr) B : fleurs C : fruit vert (fruit non mûr) D : feuilles [44].

II.3.4. Les Principaux constituants

Huile essentielle (25 % dans l'écorce du fruit), terpènes (hmonene), sesquiterpènes, aldéhydes (citral), esters. Il contient des coumanes, des flavonoïdes (hespéridine), des vitamines, mucilage[2].

II.3.5. Propriétés et Usages de citron

La richesse de citron en vitamine C, polyphénols et limonène lui attribue des effets thérapeutiques et des activités biologiques intéressantes spécialement l'activité antioxydante, antiseptique, antirhumatismale, antibactérienne et d'autres [2].

Le citron est un fruit riche en vitamine C (52 mg/100g) et P et d'un large éventail de vitamines du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes. Sa teneur en glucides et en protéines est faible, il est riche en substances minérales, notamment le potassium, le calcium (25mg/100g), en acides organiques, en sélénium, en fibres...Le citron est reconnu pour ses propriétés diététiques, en offrant 35 kcal/100g [45].

Médicament réputé La médecine populaire espagnole lui attribue tant de vertus thérapeutiques que des livres entiers lui ont été consacrés.

- Propriétés établies une fois digérées, le citron a un effet alcalin, qui le rend efficace en cas de rhumatismes favorisés par l'acidité. L'huile essentielle est antiseptique et antibactérienne.

Les flavonoïdes renforcent la paroi interne des vaisseaux sanguins et favorisent la disparition des vaisseaux la résorption des hématomes[2].

- Action préventive : Le citron est un remarquable remède préventif, ses propriétés antiseptiques et dépuratives en font un allié précieux des personnes sujettes à l'artériosclérose, aux fièvres et aux maladies infectieuses (de l'estomac, du foie et de l'intestin). Son action sur la paroi des vaisseaux sanguins aide à prévenir les troubles circulatoires et les saignements gingivaux. C'est également un excellent tonique efficace contre certaines maladies chroniques[2].

- Tonifiant des parois veineuses: Le fruit et la peau blanche préviennent l'artériosclérose, la fragilité capillaire et les varices[2].

- Le Jus de citron combat le rhume, la grippe, les infections. Il stimule la détoxification du foie, améliore l'appétit. C'est un tonique du foie et du pancréas, il combat les ulcères, l'arthrite, et les rhumatismes. Il traite les maux de gorge, les gingivites et les aphtes. Le fruit et l'écorce améliorent la circulation et renforcent la résistance contre les infections[2].

II.4. *Cinnamomum verum* syn. *C. zeyianicum* (Lauracées) :

II.4.1. Présentation et origine :

Épice de renommée mondiale, la cannelle est aussi une herbe médicinale ancienne, citée dans la Torah, texte essentiel du judaïsme. Très appréciée pour sa saveur parfumée, elle est riche en antioxydants bénéfiques pour la santé. Elle a été mentionnée dans l'Ancien Testament chinois il y a 2700 ans. Les Grecs et les Romains l'ont apprise en deux variétés, l'une de Ceylan et l'autre de Chine [46]. Elle est utilisée depuis longtemps en Inde, et son usage médicinal en Egypte et dans certaines régions d'Europe remonte au V^e siècle av. J.-C. Les indications traditionnelles, contre le rhume, la grippe et les troubles digestifs, demeurent toujours valables aujourd'hui [2].

Étymologiquement, le terme cannelle vient du latin *canna* qui signifie « roseau », par allusion à la forme de tuyau qui prennent les bâtons d'écorce de cannelle. Apparue au XII^e siècle, la cannelle est cultivée pour la première fois sur l'île de Ceylan au 12^{ème} siècle comme épice et plante médicinale, à l'origine, seule l'écorce des arbres sauvages avait une utilisation thérapeutique. Toutes les parties de la plante étant aromatiques, et englobent les fleurs, les fruits et les déchets de l'arbre [2]. Elle est d'origine du Sri Lanka et du sud de l'Inde, la cannelle pousse dans les forêts tropicales, jusqu'à 500 m d'altitude. Elle est cultivée de manière intensive dans toutes les régions tropicales, notamment aux Philippines et aux Antilles. On la multiplie par bouturage et, tous les deux ans, à la saison des pluies, on taille les arbrisseaux au ras du sol [2].

L'écorce est récoltée sur les nombreux rejets et mise à fermenter pendant 24 heures. L'écorce interne peut alors être séparée de l'écorce externe.

II.4.2. Classification systématique de la cannelle :

La cannelle peut être classée comme suit [47] :

Règne	<i>Plantae</i>
Sous Règne	<i>Tracheobionta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>

Ordre	<i>Laurales</i>
Famille	<i>Lauracées</i>
Genre	<i>Cinnamomum</i>
Espèce	<i>Cinnamomum Cassia C.aromaticumNees)</i>

II.4.3.1. Description botanique de la Cannelle

La cannelle est un genre ligneux (12 m) étroitement lié à la cannelle de Ceylan. Ses feuilles sont opposées, oblongues à lancéolées, longues de 15 cm et présentent des nervures latérales proéminentes près du bord du limbe (figure II.4). Les panicules florales ont à peu près la même longueur que les feuilles; ce sont de simples entiers qui s'enroulent dans une hélice et portent ensuite des fruits. L'écorce de la cannelle, de couleur fauve foncée, est moins courante que celle de *C. zelanicum* (figure II.4) [48]. Il a des écorces plus épaisses et se distingue par l'inclusion d'un suber avec des cellules à parois épaisses dans ses couches internes [49].



Figure II.4 : Les feuilles et l'écorces de cannelle de chine [54].

II.4.4. Composition chimique :

La cannelle contient jusqu'à 4% d'huile essentielle (aldéhyde cinnamique 65 à 75 %, phénols 4 à 10%), camphre, cuminaldéhyde, cinéol, phellandréne; des tanins (phlobatanins); des coumarines, des fibres, des minéraux et des mucilages [2].

II.4.5. Usages traditionnels et courants :

En Japon dans les années 1980, les recherches japonaises ont mis en évidence les propriétés sédatives et analgésiques de l'aldéhyde cinnamique. Cette substance serait également efficace contre l'hypertension et pour faire baisser la fièvre [2].

Les extraits d'écorce ont une action antibactérienne et antifongique.

L'intérêt thérapeutique de la cannelle est surtout dû aux propriétés antivirales et stimulantes de son huile essentielle. Une huile utilisée en cosmétique et en pharmacologie en raison de ses nombreuses propriétés médicinales. En parfumerie, elle est utilisée comme note de fond dans de nombreux parfums tels qu'Opium d' Yves Saint Laurent, «Poison» de Dior et «Ténére» de Paco Rabanne [2].

En de comme en Europe, la cannelle est utilisée pour «réchauffer» l'organisme en cas de refroidissement, souvent en association avec le gingembre [2].

Elle stimule la circulation, notamment périphérique (doigts et orteils). C'est aussi un remède classique en cas de troubles digestifs tels que nausées, vomissements et diarrhées, elle favorise le «réchauffement» ; favorise l'expulsion des gaz ; de plus, elle est antispasmodique, antiseptique et antiviral, antifongiques, antiparasitaires, anti-fermentaires, à large spectre d'activité antibactérienne, et une puissante action grâce à la curcumine qu'elle contient [50].

La cannelle est également connue pour ses propriétés aphrodisiaques, emménagogues et hyperféminités. Elle est utilisée comme aromatisant des boissons (Jus), les gâteaux, comme épice dans les soupes, les plats salés.

II.5. *Punica granatum* Grenadier (Lythracées)

II.5.1. Histoire et origine

En 1500 av. J.-C., le pharaon Thoutmès introduisit le grenadier en Egypte depuis le Proche-Orient. Apprécié pour son fruit, le grenadier a un fruit à peau épaisse et à pépins recouvert de pulpe. Il était également recherché pour ses propriétés vermifuges. Au I^{er} siècle. J.-C., le médecin grec Dioscoride les connaissait, mais elles furent oubliées par la suite pendant près de 1800 ans. En effet, au XIX^e siècle, apprenant qu'un phytothérapeute indien avait débarrassé

un patient britannique du vers solitaire grâce aux propriétés du grenadier, les médecins anglais redécouvrent cet arbre et l'étudient plus sérieusement.

Dans l'Égypte ancienne, la grenade était un emblème de fertilité et de prospérité, ainsi qu'un attribut royal. Il est considéré comme le fruit des dieux [47].

On le trouve sur les bas-reliefs égyptiens, en particulier ceux du temple de Karnak [51].

Les anciens Égyptiens fabriquaient du vin de grenade, connu sous le nom de «shehan», en fermentant des graines de grenade. De plus, les Égyptiens ont enterré ce fruit avec les morts et l'ont représenté sur les murs de la tombe [52]. La fleur de grenade couronnait le sceptre royal en Perse [47]. Elle décorait les murs du temple de Salomon, ainsi que les parements brodés des vêtements sacerdotaux [47].

La grenade fut sans doute l'un des premiers fruits à être domestiqué, il y a plus de 6000 ans. Etymologiquement, le "grenade" se réfère, dans beaucoup de langues, au mot latin "granae" pour graines, ou au mot "granatus" qui signifie granuleux, rempli de grains. L'intérêt actuel pour cette plante est fondé sur son important effet antioxydant qui pourrait prévenir des maladies cardiovasculaires, de certains cancers et troubles neurologiques, qu'elle soit consommée sous forme de fruit ou de jus [53]. Cette espèce est cérium- méditerranéenne, répandue dans les pays situés autour de la mer Méditerranée, où elle est très cultivée.

II.5.2. Classification botanique :

Linnaeus a décrit et inclus *Punica granatum*, dans sa classification en 1753 [54].

Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Myrtales
Famille	Punicaceae(Lythraceae)
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punicagranatum.L</i>

II.5.3. Description botanique :

Le grenadier est un petit arbre à port arbustif des régions méditerranéennes qui peut atteindre 6 m de haut. Ses fruits, les grenades, contiennent en moyenne 600 graines pulpeuses.

La grenade est une grosse baie ronde, de la taille d'une grosse orange, à écorce dure et coriace, de couleur rouge ou jaune beige, qui renferme de nombreux pépins de couleur rose à rouge. Seuls ses pépins sont comestibles, soit environ la moitié du fruit. Dans chaque pépin, la graine est enrobée d'une pulpe gélatineuse de chair rouge transparente, sucrée chez les variétés améliorées, sinon d'un goût plutôt âcre [54].

Il peut vivre jusqu'à 200 ans mais est le plus actif dans les fruits au cours des 20 premières années de fructification. Ces feuilles caduques opposées sont brillantes et mesurent 3 à 7 cm de long sur 1 à 2 cm de large. Ses fleurs rouge vif font 3 cm de diamètre, émergent partout, et sont souvent rencontrées au hasard dans le Say. L'été est la saison de la floraison. La fructification a lieu entre septembre et octobre [55].



Figure II.5 : Différents parties de grenadier [2].

II.5.4. Composition chimiques

La grenade contient des flavonoïdes (anthocyanes et quercétine), des polyphénols surtout des ellagitanines (tanins ellagiques) jusqu'à 25% comme la punicalagine et des triterpènes. La peau et l'écorce contiennent des alcaloïdes (la pelletière) [2].

D'après Nesterenki (1948), le péricarpe de la grenade contient, russe, 52,6 % d'eau et 28,4 % de tanin, cette grande quantité permet de l'utiliser en tannerie et pour la teinture des lainages et tissus. Ces tanins sont considérés comme les meilleurs pour la préparation des cuirs de qualités supérieures. Les pépins fournissent une huile végétale (95% acide punique, acide ellagique et autres acides gras, stérols), ainsi qu'une farine alimentaire pour le bétail et la volaille [53].

II.5.5. Propriétés pharmacologique, biologiques et usages de la grenade

La peau du fruit et l'écorce du grenadier sont considérées comme un remède spécifique du ver solitaire, ou ténia. En effet, les alcaloïdes contenus dans la peau et l'écorce contraignent ce parasite à se détacher de la paroi intestinale. Ensuite, si la décoction est prise avec un laxatif puissant, l'intrus est facilement expulsé. La peau et l'écorce sont également astringentes et permettent de traiter la diarrhée. En Espagne, on boit du jus de grenade pour améliorer la digestion ou lutter contre les flatulences [2].

D'après Bellakhdar (1997), Le fruit et son jus employés au Maroc comme pectoral et astringent. Le jus est utilisé, au Moyen-Orient, comme condiment acidifiant et astringent aussi comme diurétique. Les Feuilles étaient considérées comme fortement astringentes et connus comme antidiarrhéique. Selon Beloued (2005), ces feuilles fraîches ou sèches, donnent une tisane efficace contre la débilité de l'estomac, les nausées, la faiblesse, générale, la chlorose [53].

Les Fleurs, ou balaustes, de coloration rouge, étaient signalés en Algérie avant l'indépendance pour leur emploi comme astringent; ces fleurs mises à macérer dans du lait de chamelle étaient employées en usage externe pour traiter les dartres du visage en Afrique du Nord et en particulier au Maroc [53].

Les extraits de jus de grenade semblent pouvoir ralentir le développement des cellules cancéreuses et la formation de tumeurs prostatiques. D'autre part, ils semblent présenter d'intéressantes et multiples propriétés contre le cancer du sein, aussi bien dans un but préventif que dans un but thérapeutique [53].

Chapitre III :

**Procédés d'extraction et
techniques d'analyse utilisés**

III.1. Les procédés d'extraction utilisés

La valorisation des plantes médicinales se fait par la recherche de leurs principes actifs qui sont responsables de leurs effets pharmacologiques et biologiques. L'obtention de ces métabolites nécessite tous d'abord leurs extraction puis leurs purification et une analyse permet de les identifier et les caractérisés.

Il existe une multitude de techniques d'extractions et de purification. Elles peuvent être classées suivant la nature liquide ou solide de l'échantillon. Dans ce travail, la curcumine est extraite par macération à froid et l'extraction à chaud par Soxhlet.

III.1.2. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est un processus lent qui consiste à extraire un matériau d'un solide et à le faire passer dans un solvant liquide. Les approches d'extraction solide-liquide comprennent la macération, l'infusion et la décoction. Il est pratiquement difficile de dissoudre un seul composé car d'autres composants de la phase solide sont pris avec lui, quel que soit le solvant utilisé. Dans le laboratoire de chimie organique, des instruments plus puissants tels que les extracteurs Soxhlet et Kumagawa, qui fonctionnent en continu, sont également utilisés [51].

III.1.2.1. La macération

C'est une technique séculaire qui est couramment utilisée. Il s'agit d'exposer la matière végétale au solvant, avec ou sans agitation, à température ambiante ou à température élevée, pendant une durée prédéterminée. Elle dépend de la solubilité des composés bioactifs dans un solvant d'extraction et est déterminée par un certain nombre de facteurs tels que la qualité de la substance végétale, la concentration en soluté de l'échantillon, la nature du solvant et la période d'extraction... [56,57]. La macération est la méthode d'extraction la plus simple et la moins coûteuse; il peut être utilisé pour éliminer un groupe de molécules délicates et se déroule à température ambiante, ce qui est idéal pour préserver l'identité des molécules bioactives vulnérables aux changements de température. De plus, une matrice peut être extraite plusieurs fois avec des solvants progressivement polaires pour produire des mélanges enrichis en molécules d'intérêt [58,59]. Cette méthode a été adaptée en particulier pour l'étude de composés non volatils (polyphénols, sucres) avec un grand volume de solvant. La

macération nécessite de très longues périodes d'extraction (environ 4 à 10 jours) pour réussir, ce qui peut présenter certains inconvénients en termes de fermentation ou de contamination bactérienne, en particulier si le solvant utilisé est l'eau [60-61].

III.1.2.2.Extraction par appareillage Soxhlet

L'extraction par solvant organique chaud est une technique populaire. L'idée de base derrière cette approche est d'immerger les plantes dans un solvant organique volatil chaud, soit pour produire des produits qui ne peuvent pas être récoltés par d'autres méthodes, soit pour augmenter le rendement [62]. Un mécanisme de régénération de solvant interne dans l'appareil Soxhlet (Figure III.1) permet à la plante enfermée dans une cartouche de cellulose d'être maintenue en contact constant avec du solvant pur. La solubilité, la sélectivité, la stabilité, l'inertie chimique et une température d'ébullition qui n'est pas trop élevée pour permettre une élimination complète affectent le choix du solvant. Cette méthode consiste à épuiser la matière végétale avec un solvant à bas point d'ébullition, qui est ensuite extrait par distillation sous pression réduite.



Figure III.1: Extraction de curcumine par Soxhlet.

III.2. Techniques d'analyse utilisées

Après l'extraction des principes actifs des plantes, les méthodes d'analyse permettent la séparation, l'identification et la purification de leurs constituants. Les méthodes chromatographiques peuvent être classées en fonction de la nature physique des phases.

Parmi ces méthodes, les plus courantes sont la chromatographie sur couche mince et la chromatographie sur colonne.

III.2.1. Chromatographie sur Couche Mince (CCM) :

La Chromatographie sur Couche Mince (CCM) est la plus élémentaire des techniques chromatographiques, c'est une méthode simple et rapide permet de suivre l'évolution d'une réaction ou de tester la pureté de composés organiques. Il s'agit d'appliquer une tache sur une feuille (papier, silice...) et de la laisser éluer en la trempant dans un solvant ou une combinaison de solvants (éluant), l'éluant diffusant le long de l'aide. Le colorant migre sur la feuille à différentes concentrations en fonction du type de connexions qu'il a avec le support et l'éluant. Lorsque la plaque sur laquelle on a déposé l'échantillon est placée dans la cuve, l'éluant monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile. Généralement, en CCM, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires. Les constituants de l'échantillon peuvent être identifiés par comparaison au témoins [63].

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

- **La cuve chromatographique:** Un bocal en verre avec un contour variable et un couvercle sécurisé.
- **La phase stationnaire:** Une feuille de gel de silice de 0,25 mm ou un autre adsorbant est liée à une plaque de verre avec un liant tel que l'amidon.
- **L'échantillon:** Déposer environ un microlitre (ml) de solution diluée (2 à 5%) du mélange à examiner en un point de référence au-dessus de la surface de l'éluant.

- **L'éluant (phase mobile):** Un solvant pur ou un mélange qui migre lentement autour de la couche, entraînant avec lui les composants de l'échantillon.

Après la migration, les taches doivent être révélées; cette identification peut être réalisée de deux manières:

1. Un réactif distinctif est pulvérisé.
2. En immergeant dans un bain de permanganate de potassium.
3. Pulvérisation de vapeur d'iode sur la zone touchée.
4. Si la plaque de silice a un indicateur de fluorescence, il peut être déterminé en l'observant sous un éclairage ultraviolet (UV).

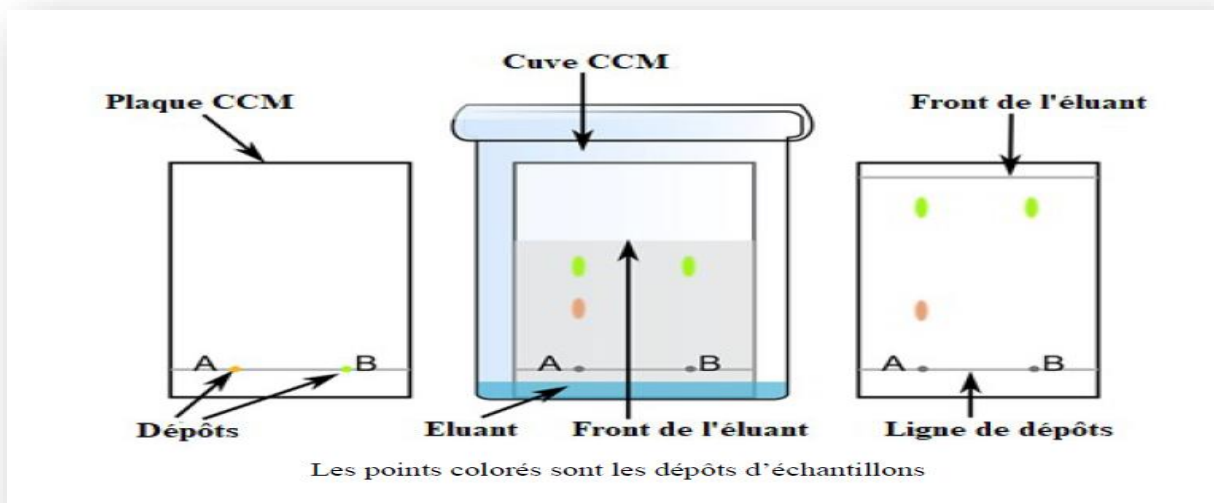


Figure III.7:Schéma d'une CCM [63].

III.2.2. Chromatographie sur colonne :

Contrairement à la CCM, la chromatographie sur colonne est une méthode préparative qui permet de séparer et d'isoler les constituants d'un mélange. Cette méthode présente plusieurs inconvénients :

- Elle nécessite une grande quantité d'éluant;
- La durée de l'élution est en général très grande (au minimum, plusieurs heures);
- Il est indispensable de coupler cette chromatographie avec d'autres méthodes de façon à pouvoir détecter les constituants du mélange.

La chromatographie sur colonne est une technique fondée principalement sur des phénomènes d'adsorption :

- ✓ Phase stationnaire : alumine ou silice remplissant une colonne de longueur et de section variables;
- ✓ Le mélange, en solution très concentrée, est déposé au sommet de la colonne;
- ✓ La séparation des constituants du mélange résulte de l'écoulement continu d'un éluant à travers la colonne par gravité.

Dans la technique classique, l'éluant est un solvant unique mais on peut accroître progressivement la polarité de l'éluant de façon à accélérer le déplacement des constituants du mélange.

Le principe de la chromatographie sur colonne est le même que celui de CCM d'une part, les substances les plus polaires sont fortement retenues par l'adsorbant, d'autre part, les solvants polaires entraînent facilement les constituants les plus polaires.

Une bonne séparation est souvent plus difficile à obtenir qu'avec une CCM outre du choix de l'adsorbant et de l'adsorbant, la séparation dépend de la dimension de la colonne et de la vitesse de l'élution[64]. Il est à noter que les séparations CCM peuvent être répliquées sur une colonne du même adsorbant. En revanche, la progression de la chromatographie sur colonne peut être suivie en examinant chaque éluant sur CCM.

III.2.3. Spectroscopie UV / Visible

La partie du spectre d'absorption UV-Visible englobe les radiations visibles pour l'œil humain et apporte peu d'informations structurales. En revanche beaucoup d'applications en analyse quantitative. Cette technique trouve son champ d'application dans le domaine organique ainsi que dans le domaine inorganique [65].

En UV-Visible, les mesures reposent sur la loi de Beer-Lambert qui relie dans certaines conditions l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution :

$$\text{Log } I_0/I = \epsilon \cdot C \cdot l$$

Où:

ϵ : Coefficient d'absorption molaire ($M^{-1} \cdot cm^{-1}$).

C : La concentration du composé.

L : Largeur de la cellule d'analyse.

Le terme $\log I_0/I = A =$ densité optique (DO) [65].

Chapitre IV :

Matériels et méthodes

IV.1. Matériels et Méthodes

Ce travail a été réalisé au sien du laboratoire pédagogique de chimie département de Génie de procédés, université de Ghardaïa, en Mars 2021.

IV.1.1 Matériel de laboratoire :

Tous les solvants et les produits chimiques utilisés dans ce travail sont de haute qualité et pureté (Fluka, Sigma-Aldrich, Prolabo et Biochem).

IV.1.2. Matériel végétale :

Dans ce travail, pour l'extraction de curcumine on a choisi cinq plantes à savoir : Le *Curcuma Longa L*(les rhizomes secs), la cannelle en poudre (d'origine indienne achetée à un herboriste à Ghardaïa), l'écorce d'orange, de citron et de grenade d'origine de Metlili (Figure IV.1, IV.2, IV.3,IV.4, IV.5).

Les parties utilisées des plantes sélectionnées (racines de curcuma, les écorces d'orange et de grenade)sont bien nettoyées, lavées, séchées à l'air libre puis lavées et séchées à l'aide d'une étuve ENIEM à une température qui convient chaque partie), puis broyés finement, tamisées et conservées pour l'analyse. Quand au citron nous avons utilisé les zestes frais râpés.

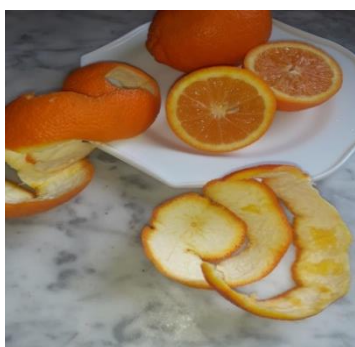


Figure IV.1: Orange



Figure IV.2: la cannelle



.Figure IV.3: le citron.



Figure IV.4: La grenade.



Figure IV.5: curcuma.

IV.2. Extraction de curcumine

Dans ce travail, la curcumine est extraite des Matières premières précédemment mentionné par deux méthodes d'extraction à savoir l'extraction par macération et celle par Soxhlet.

IV.2.1. Extraction par macération à froid

Ce type d'extraction simple est un lien entre le support solide (curcuma, orange citron grenade et la cannelle) et le solvant (éthanol, acétone, méthanol, etc) pour extraire la substance active (curcumine) selon le protocole décrit par Romani et *al.* [66]avec modification.

Une masse d'environ 40 ou 10 g de poudre de chaque plante étudiée est macérés dans 100 ou 25 ml de solution d'éthanol à température ambiante pendant cinq jours, la même expérience avec le solvant acétone comme il est indiqué dans le diagramme ci dissous. Après avoir filtré les solutions sur papier filtré WattmanN°1, le solvant est vaporisé à l'aide d'un Rotavapeur avec une température d'évaporation spécifique définie pour chaque solvant. L'extrait obtenu est conservé à 4°C et recouvert d'une feuille d'aluminium pour éviter l'oxydation jusqu'à l'analyse.

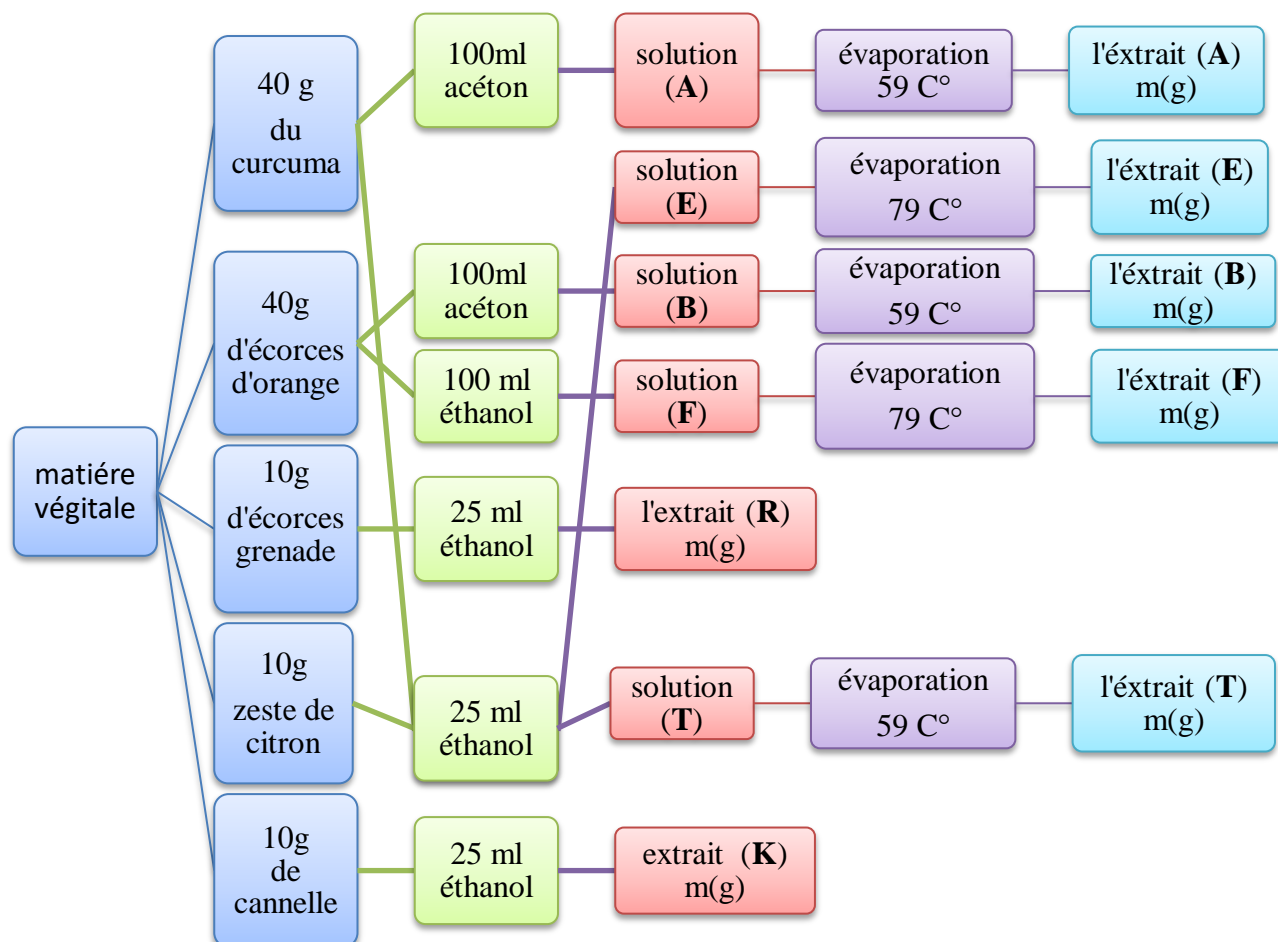


Figure IV.6:Schéma d'extraction de curcumine de cinq plantes par macération à froid.

IV.2.2. Extraction par appareillage Soxhlet

L'extraction par Soxhlet est une méthode d'extraction Solide-liquide fréquemment utilisée.

Une masse de 12.9 g d'échantillon de chaque plante étudié sont met dans une cartouche Soxhlet en contact 150 ml de méthanol dans le ballon à 60°C pendant 3 à 5 heures. Le solvant ensuite est évaporé par rotavapeur sous pression réduite à 40°Cet l'extrait obtenu sera conservé à 4 °C après calcul de rendement.

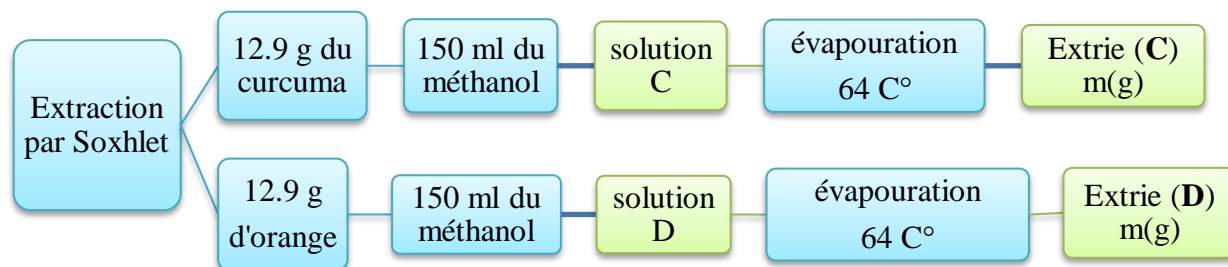


Figure IV.7:schéma d'extraction de curcumine de cinq plantes par Soxhlet.



Figure IV.8: Les étapes d'extraction de la curcumine par montage de Soxhlet.

IV.3. Préparation de curcumine pur

Pour préparer la solution de curcumine qui sert un témoin, une masse de 0.7958 g de curcumine commerciale (acheté à Boumerdès) est dilué dans 10 ml d'éthanol.



Figure IV.9 : Curcumine.



Figure IV.10: Solution de curcumine.

IV.4.Etude qualitative :

IV.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique permettant de déterminer la pureté d'une substance et de séparer les constituants d'un mélange. La théorie derrière cette approche est que les constituants à séparer sont sélectivement répartis entre deux phases: la phase mobile et la phase stationnaire. La distribution des constituants en chromatographie sur couche mince est une caractéristique des phénomènes d'adsorption dans ce cas[63].

IV.4.1.1. Les principaux éléments du (CCM)

- **Cuve à chromatographie** : Un bécher en verre fermé.
- **Phase mobile (éluant)** :Hexane / éthyle acétate / éthanol (6:3:1).
- **Phase stationnaire** : Un film de gel de silice, d'environ 0,25 mm d'épaisseur, est fixé sur une plaque d'aluminium.
- **Révélateurs** :Lampe UV 365 nm.

IV.4.1.2. Développement du Chromatogramme

Sur une plaque de 5 à 6 cm contient la ligne du bas à 1 cm du bas et en haut, on dessine 4 petits points à une distance de 1 cm où les échantillons sont déposés à l'aide d'une pipette Pasteur. La plaque placée parla suite dans une cuve munie d'un support, contenant la phase mobile. Le système de solvants utilisé est choisi après plusieurs essais.

Les systèmes de solvant utilisés après plusieurs essais sont:

- ✚ Pour la première éluant: Hexane/Acétate d'éthyl/H₂O (6:3:1).
- ✚ Pour la deuxième éluant: Hexane/n.butanol/ H₂O (6:3:1).
- ✚ Pour la troisième éluant : Hexane / acétate d'éthyle /éthanol (6:3:1).

Après développement et séchage du chromatogramme, les taches sont marquées et délimitées dans une chambre sous la lumière UV à 365 nm, cette opération est répétée après chaque élution, et à la fin une révélation sous la lumière UV, on note les changements de couleurs observés.



Figure IV.11: L'évolution du chromatogramme.

IV.4.1.3. Calcul du rapport frontal (R_f)

Les indications que peuvent apporter ce facteur constitue une donnée importante pour tout phytochimiste. Les valeurs des R_f effectués sur des systèmes chromatographiques spécifiques ou conventionnels peuvent si elles sont bien utilisées, apporter beaucoup d'indications. Ce dernier point permet effectivement de classer les composés à analyser selon la nature des substituants présents sur ces squelettes. Le rapport frontal (R_f) est calculé par la relation suivante :

$$R_f = \text{Distance parcourue par le constituant} / \text{Distance parcourue par l'éluant.}$$

IV.4.2. Chromatographie sur colonne

La séparation des composés est réalisée par un écoulement continu d'un éluant circulant à travers la colonne sous gravité ou basse pression. En fonction de leurs affinités avec la silice

et l'éluant, les composés sont entraînés à différentes concentrations par l'éluant. Les différents composants d'un produit peuvent être différenciés à l'aide de cette méthode.

IV.4.2.1 Les principaux éléments de la chromatographie sur colonne :

- **Phase stationnaire** :C'est la colonne contenant une quantité de gel de silice.
- **Phase mobile**: Les systèmes de solvant utilisés après plusieurs essais sont:
 - ✚ Le premier éluant: Hexane / acétate d'éthyle / H₂O (6 /3 /1).
 - ✚ Le deuxième éluant: Hexane/ acétate d'éthyle / H₂O (8 /1,5/ 0,5).
 - ✚ Le troisième éluant: Hexane/Acétate d'éthyle/éthanol (6 /3 / 1).

Dans une colonne chromatographique contenant une quantité de gel de silice et fermé sur l'extrémité inférieure par un morceau de coton. On met l'éluant optimisé (Hexane / acétate d'éthyle / éthanol (6 / 3 / 1) dans la colonne puis on ajoute 0,5 ml d'extrait. L'extrait est fractionné avec un gradient de couleur dans l'ordre de bas en haut (transparent, jaune clair, orange, orange jaunâtre, orange rougeâtre, jaune clair, marron clair, marron foncé)(figure IV.17). A chaque fois, on recueille les fractions obtenus dans des flacons en verre. On répète l'expérience pour chaque extrait. Les fractions collectées sont soumises au contrôle chromatographique sur couche mince, puis révélées par la lampe UV à 365 nm, ce qui nous a permis de rassembler les fractions présentant des similitudes.



Figure IV.12: L'évolution la chromatographie.

IV.5. L'analyse par Spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie est une méthode quantitative et qualitative, sensible, elle permet d'analyser les échantillons à faible concentration. Les spectres sont caractéristiques aux molécules, et procurent des informations sur le squelette moléculaire et les différentes substitutions. Après dilution des extraits obtenus, on calcule leur absorbance par spectroscopie UV-Visible contre un blanc (éthanol).

Les concentrations de curcumine dans les fractions obtenus sont calculés par apport un courbe d'étalonnage de curcumine commerciale.



Figure IV.13: Spectrophotomètre UV.

Le spectre UV/vis de curcumine solubilisé dans l'éthanol présente deux bandes; qui se situent respectivement entre 320- 380 nm correspondant au cycle B et 240 nm–270 nm correspondant au cycle A. Ce spectre est susceptible d'être modifié en présence des réactifs spécifiques, dont les changements du spectre apportent des indications sur la position des substitutions (groupements hydroxyles) sur la molécule [24].





Chapitre V:

Résultats et discussions

V.1. Propriétés organoleptiques :



Les extraits de curcumine obtenus par les deux méthodes (macération et par Soxhlet), sont sous forme pate, de couleur varie de marron foncé, orange et jaune clair avec une odeur caractéristique de plante extraite (**Tableau V.1 et Tableau V.2**).

Tableau V.1:Les propriétés des extraits obtenus par macération à froid.

Fraction	Odeur	Couleur	R %	photo
A	Curcuma	Marron foncé	2,245	
E	Curcuma	Brun rougeâtre	15,388	
B	Orange	Orange	1,74	
F	Orange	Orange rougeâtre	3,955	

R	Grenade	Marron	7,50	
T	Citron	Jaune clair	3,63	
K	Cannelle	Marron foncé	7,33	

Tableau V.2: Les propriétés des extraits obtenus par la méthode Soxhlet.

Fraction	Odeur	Couleur	m (g)	photo
C	Curcuma	Marron foncé	1,783	
D	Orange	Marron foncé	13,651	

V.2. Rendement d'extraction de la curcumine

Les rendements des extraits bruts varient de 1.74-15.388% comme il est représenté dans la **figure V.1, Tableau V.1 et Tableau V.2.**

L'extrait de curcuma présent le rendement le plus élevée (15.388%), suivie de l'extrait de grenade et de cannelle. Ce qui montre la richesse de ces plantes en curcumine.

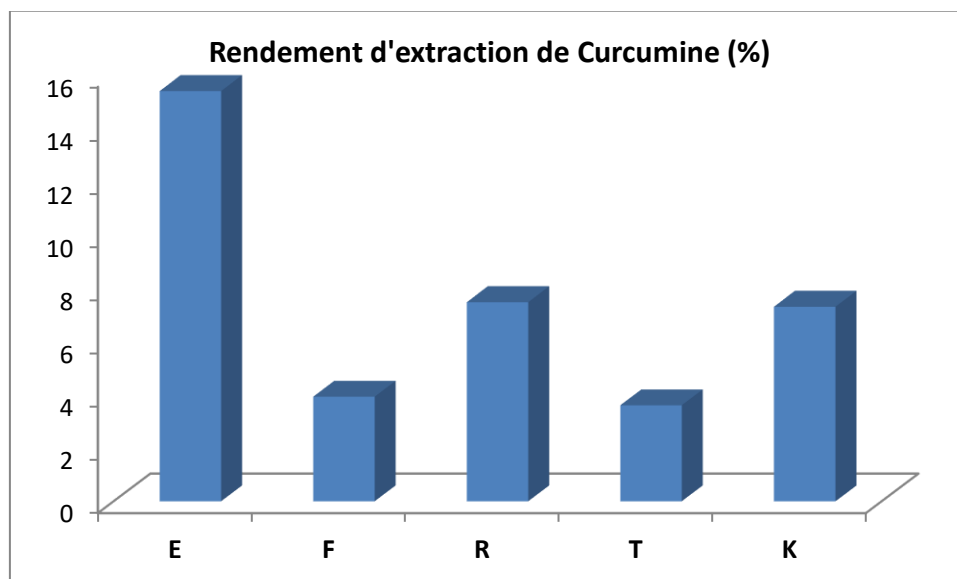


Figure V.1 : Rendement d'extraction de curcumine par éthanol dans les plantes étudiées.

Concernant le curcuma et l'orange, nous avons extraire la curcumine par deux méthodes à savoir la macération à froid (en utilisant l'éthanol et l'acétone) et par appareil de Soxhlet (en utilisant le méthanol comme solvant). Les résultats montrent clairement que le taux plus élevée en curcumine pour le curcuma est celui obtenu par macération à froid en utilisant l'éthanol (15.388%). Par contre pour l'orange, le rendement le plus élevé est enregistré par l'extrait méthanolique en utilisant la méthode de Soxhlet (13,651%). Quelque soit les résultats trouvées sont en accord avec la littérature qui indique que la curcumine est soluble dans l'éthanol. En générale, le rendement d'extraction est influencé par la nature de composé extraite, la plante étudiée, le solvant utilisé et les conditions d'extraction (méthode, solvant...).

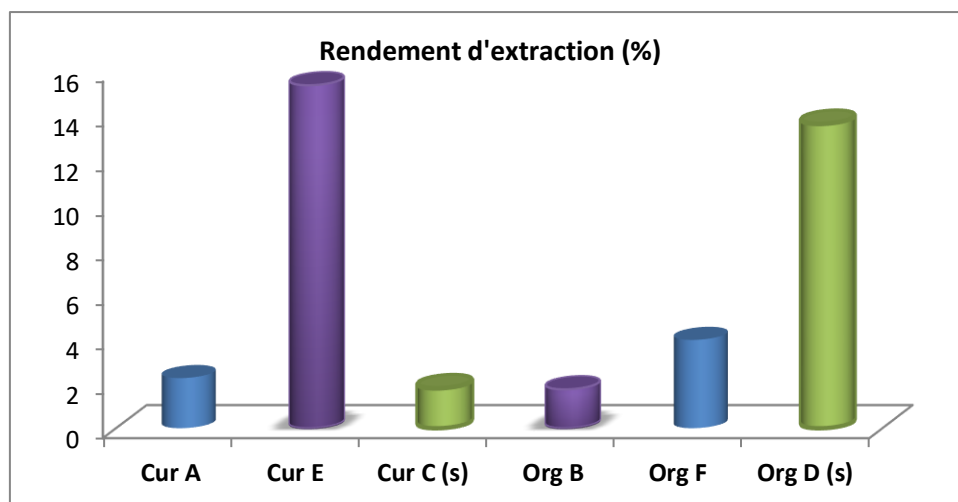


Figure V.2 : Effet de solvant et la méthode d'extraction sur le rendement en curcumine extraite de curcuma et d'orange.

V.3. Analyse par chromatographie préparative

V. 3.1. Chromatographie sur couche mince CCM

Les résultats obtenus (Figure V.3 et Tableau V.3), montrent nettement la richesse de curcuma en curcumine traduit par des taches jaunes claires et nettes avec une valeur de $R_F=0.610$. L'absence des taches dans les fractions de cannelle, citron, grenade et d'orange montre qu'ils ne contiennent pas de curcumine ou son existence est en faibles quantités.

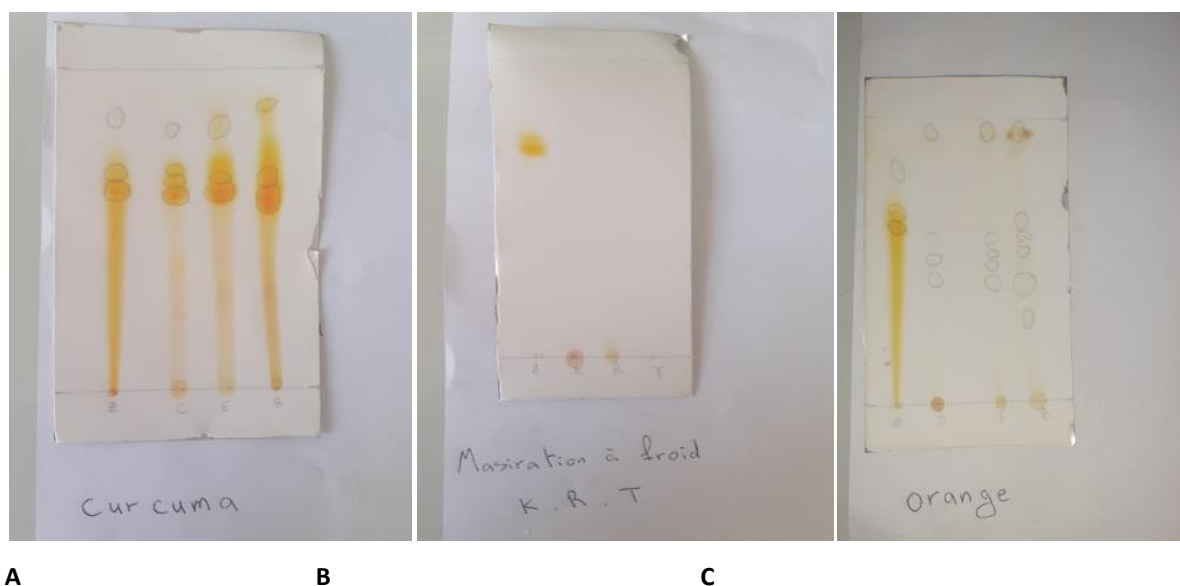


Figure V.3: Résultats d'analyse par chromatographie sur couche mince CCM pour :
A : de curcuma. B : de cannelle, citron et grenade. C : d'orange.

Tableau V.3: Les résultats de manipulation

Fraction	Tache	R _f	Couleur
A	3	0.584	Oronge
E	3	0.597	Oronge
C	1	0.597	Oronge
D	4	0	Transparent
B	6	0	Marron Clair
F	5	0	Marron Clair
R	0	0	Transparent
T	0	0	Transparent
K	0	0	Transparent
Z	1	0.610	Orange

V.3.2. Chromatographie sur colonne

Après la confirmation de la présence ou non de la curcumine dans nos extraits, nous avons effectué la séparation par chromatographie sur colonne, les résultats sont les suivants :

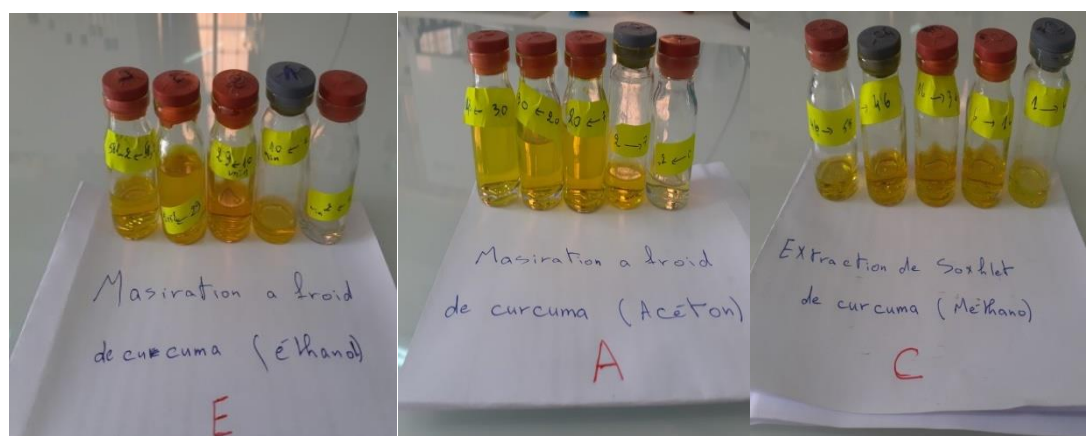


Figure V.4: Les Fractions obtenus lors de séparation par chromatographie sur colonne respectivement (fraction E, A et C).

V.3.2.1. Analyse par Chromatographie sur couche mince des fractions séparées

Les fractions obtenus lors de la séparation par chromatographie sur colonne sont subies ensuite à un analyse par chromatographie sur couche mince en utilisant le système Hexane / acétate d'éthyle /éthanol (6:3:1) comme éluant et une révélation sous la lumière UV à 365 nm. Cette analyse sert à identifier la curcumine dans ces fractions.

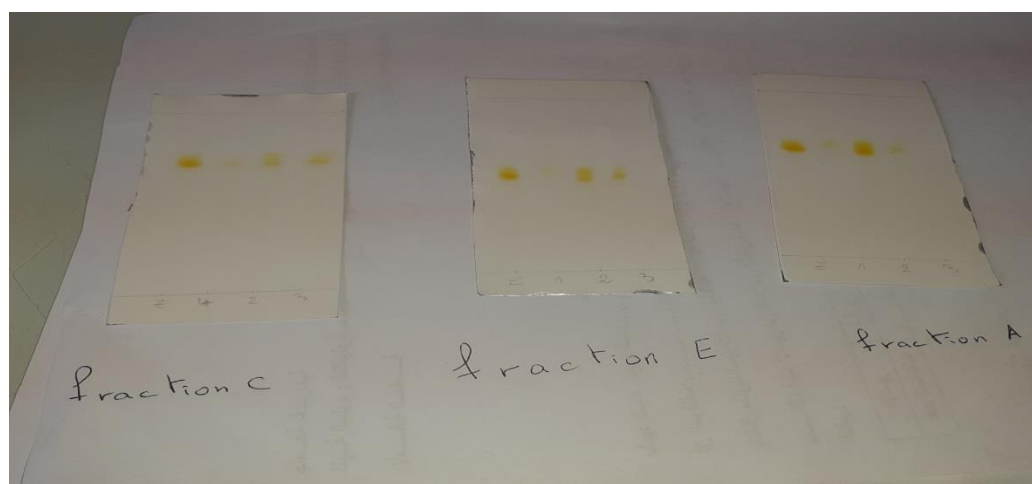


Figure V.5: Résultats d'analyse par chromatographie CCM pour les fractions: C, E et A.

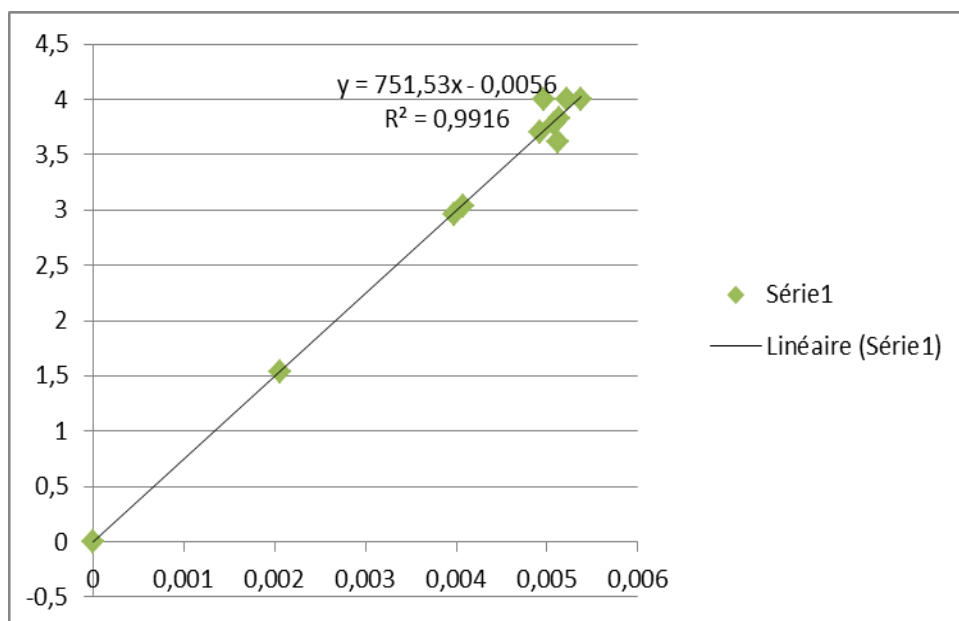
Les plaques obtenus présentent une bonne migration; par conséquent une bonne séparation qui permet l'analyse qualitative de curcumine. Les taches sont bien distinctes et montrent une richesse considérable des extraits analysés en curcumine. A la lumière des résultats obtenus, les fractions C, E et A contient de la curcumine identifié par CCM traduit par l'apparition des taches et des valeurs de R_f variables (**Figure V.5 et Tableau V.4**).

Tableau V.4: Les valeurs de R_f de chaque fraction

Fraction	Durée (min)	Tache	Couleur	R_f	
C	Z	/	1	Orange foncé	0.6125
	1	6-16	1	Orange clair	0.6125
	2	16-36	1	Orange foncé	0.600
	3	36-46	1	Orange foncé	0.600
E	Z	/	1	Orange foncé	0.641
	1	2-10	1	Orange clair	0.666
	2	10-29	1	Orange foncé	0.654
	3	29-118	1	Orange foncé	0.654
A	Z	/	1	Orange foncé	0.506
	1	2-7	1	Orange clair	0.518
	2	7-20	1	Orange foncé	0.481
	3	20-30	1	Orange clair	0.531

V.4. Analyse quantitative par spectrophotomètre UV-Visible

Les teneurs en curcumine sont calculées par rapport la courbe d'étalonnage de curcumine commerciale (figure V.6).



FigureV. 6:Courbe d'étalonnage de curcumine.

D'après les résultats de **tableaux V.5 et la figure V.7**, nos fractions contiennent des faibles teneurs en curcumine. L'orange présente la quantité la plus élevée en curcumine suivie de curcuma.

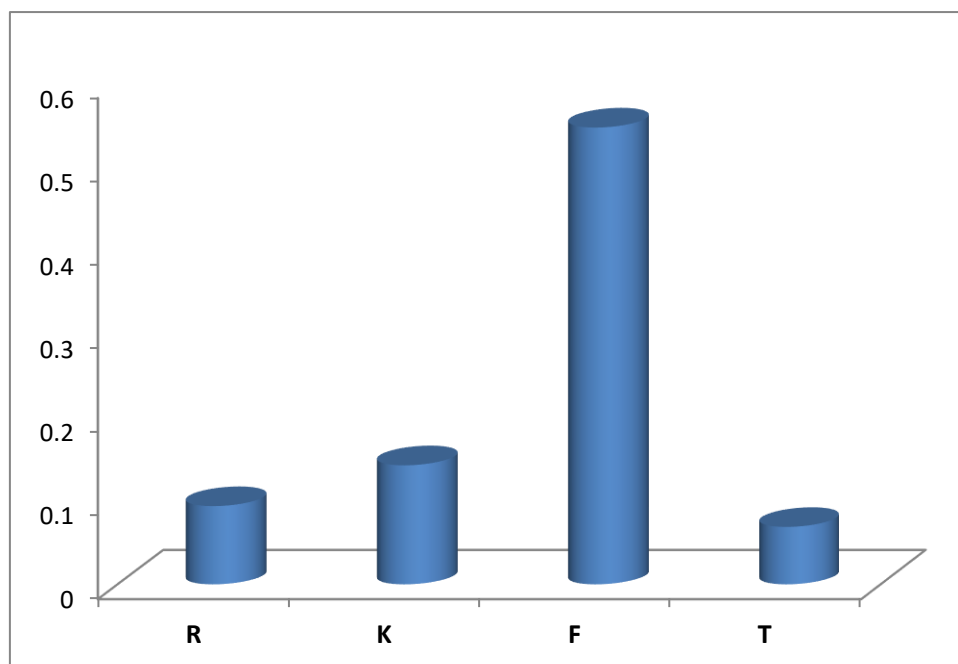


Figure V.7: Quantité de curcumine dans les extraits.

Tableau V.5 : L’Absorbance des fractions de curcumine par UV.

Extrait	C (mol /L)	Abs
R	0,0001325	0,094
K	0,0001977	0,143
F	0,00008024	0,547
T	0,00009926	0,069

Conclusion

Générale

Conclusion Générale

Le recours à la médecine à base des plantes est profondément ancré dans notre culture, riche en plante médicinales à des vertus thérapeutiques et culinaires divers grâce aux substances actives qui elles construisent à des fins défensifs ou autre. La valorisation de valeur thérapeutique et des propriétés biologiques des ces métabolites fait l'objet de nombreuses recherches. La curcumine, depuis son isolement, ce polyphénol naturel fait l'objet de nombreuses évaluations antioxydant, conservateur, anti-inflammatoire, anti-cancersont autant d'activités faisant d'elle un composé d'intérêt culinaires, thérapeutique et biologique.

L'objet de ce travail est l'optimisation d'extraction de curcumine a partir de rhizomes de curcuma, l'écorce d'orange et de grenade, de cannelle et de zeste de citron par deux méthodes : extraction par macération à froid en utilisant l'éthanol et l'acétone et par Soxhlet avec le méthanol comme solvant, la séparation et l'identification de curcumine dans les extraits obtenus est faite par chromatographie sur couche mince et celle sur colonne par trois systèmes afin de déterminer l'éluant optimale convenable.

Les extraits de curcumine obtenus par les deux méthodes (macération et par Soxhlet), sont sous forme pate, de couleur varie de marron foncé, orange et jaune clair avec une odeur caractéristique de plante extraite.

Le rendement des extraits varie de 1.74-15.39 %, dont l'extrait de curcuma présent le rendement le plus élevée (15.388%), suivie de l'extrait de grenade et de cannelle. Ce qui montre leur richesse en curcumine.

L'extraction de curcumine à partir le curcuma et l'orange par les deux méthodes macération à froid (par l'éthanol et l'acétone) et par Soxhlet (en utilisant le méthanol) montre que le taux le plus élevée en curcumine pour le curcuma est celui obtenu par macération à froid en utilisant l'éthanol (15.388%). Par contre pour l'orange, est celui obtenu par méthanol en utilisant la méthode de Soxhlet (13,651%).

L'analyse chromatographique par couche mince en utilisant le système (Hexane / acétate d'éthyle / éthanol (6 / 3 / 1) permet l'identification de curcumine dans l'extrait du curcuma traduit par des taches jaunes claires et nettes avec une valeur de $R_F=0.610$. L'absence des taches dans les autres extraits indique peut être leur existence en faible quantité. Ce qui est montré par l'analyse chromatographique CCM des fractions obtenus lors de la séparation par

Conclusion Générale

chromatographie sur colonne en utilisant l'éluant: Hexane / acétate d'éthyle /éthanol (6:3:1) et une révélation sous la lumière UV à 365 nm. Cette analyse révèle que les fractions éthanoliques, acétoniques et même méthanoliques séparées contiennent de la curcumine. Ces résultats sont prouvés par analyse quantitative à l'aide de spectrophotomètre UV-Visible où on trouve des faibles teneurs en curcumine avec des absorbances variables. L'orange présente la quantité la plus élevée en curcumine suivie de curcuma.

Quant aux perspectives de ce travail, elles peuvent s'articuler autour des points suivants:

- ❖ Il est très intéressant de faire un criblage phytochimique en utilisant d'autres techniques d'analyse et d'autres conditions d'extraction.
- ❖ Caractérisation des extraits obtenus par d'autres techniques structurales telles que l'IR, RMN...
- ❖ Etude des activités biologiques notamment l'activité antioxydante de ces extraits.
- ❖ Elargir ce travail sur d'autres plantes médicinales plutôt que sur d'autres déchets agroalimentaires.

Références Bibliographiques

Référence Bibliographiques

1. **P. Vogel** « Examen Chimique de la racine de Curcuma ». Journal de Pharmacie et des Sciences Accessoires, 1815, 289–300.
2. **P. Iserin**, « Encyclopédie des plantes médicinales », édition Larousse, 2001.
3. **Schraufstatter, E.; Brent, H.** “Antibacterial Action of Curcumin and Related Compounds”. Nature 1949, 164, 456–457.
4. **J. Jean-Pierre** « Curcuma et curcumine: de l’histoire aux intérêts thérapeutiques ». Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01517353.
5. **S Belazizia et H Bettiche.** « Extraction et caractérisation de la substance active de curcumine » ; Université Larbi Ben M’Hidi / Oum El Bouaghi ; 2019.
6. **Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S., &Gopi, S.** (2017). “Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives”—A review. Journal of traditional and complementary medicine, 7(2), 205-233.
7. **Ashok Kumar P, Bangaraiah P** “ Extraction of curcumin from Turmeric Roots” International Journal of Innovative Research and Studies , P 290, ISSN 2319-975.
8. **FAO** “Food and Agriculture Organization” 2001 “ Food and Nutrition Paper” 52 Add. 9.
9. **Cheik Ali Z,**Études chimiques et biologiques d’Aframomum “Sceptrum (Zingiberaceae) et de la curcumine”. Autre. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Français. NNT : 2012PA114814. tel- 00812878
10. **Goel A., Kunnumakkara A.B., Aggarwal B.B.,**2008“Curcumin as “Curecumin”: From kitchen to clinic”. Biochem. Pharmacol. 75; 787–809.
11. **Manolova Y; Deneva V; Antonov L; et al** (2014). "The effect of the water on the curcumin tautomerism: A quantitative approach": 815–820.
12. **M Nabati, M Mahkam, H Heidari.** “Isolation and characterization of curcumin from powdered rhizomes of turmeric plant marketed in Maragheh city of Iran with soxhlet technique”, Chemistry Department, University, Tabriz, Iran, 2014.
13. **Lin, L.; Shi, Q.; Su, C. Y.; Shih, C. C.; Lee, K. H. Bioorg.**2006 “Antitumor agents 247. New 4-ethoxycarbonylethyl curcumin analogs as potential antiandrogenic agents”.Med. Chem. 14, 2006, 2527.
14. **Aggarwal B, Bhatt I, Ichikawa H, Ahn K, Sethi G, Sandur S, et al.**2006 “Curcumin biological and medicinal properties. Turmeric: the genus Curcuma”. Taylor and Francis Group;. p. 297–368.

15. **Lampe V., Milobedzka. J.** « Studienfiber Curcumin ». Ber Deutsch Chem Ges 1913; 46:2235.
16. **Aggarval B, Kumar A, Bharti A.** 2003 “Anticancer potential of Curcumin: preclinical and clinical studies”. Anticancer Res; 23:363-98.
17. **Itokawa H., Shi Q., Akiyama T., Morris-Natschke S., Lee K-H.**2008“Recent advances in the investigation of curcuminoïdes”. Chinese Medicine, 3:11.
18. **Subhan, M. A., Alam, K., Rahaman, M. S., Rahman, M. A., &Awal, M. R.** (2014). “Synthesis and characterization of metal complexes containing curcumin (C₂₁H₂₀O₆) and study of their anti-microbial activities and DNA binding properties”. J. Sci. Res, 6(1), 97-109.
19. **Patil, M.; Shivapraskash, B. V.**2013 “Pharmacology and Clinical Use of Dimethyl Sulfoxide (DMSO)”: A Review. International Journal of Molecular Veterinary Research, 3 (6), 23–33.
20. **Maheshwari, R. K., Singh, A. K., Gaddipati, J., et Srimal, R. C.** (2006). “Multiple biological activities of curcumin”: a short review. Life Sci, 78(18), 2081-2087.
21. **Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E., Dicato, M., et Diederich, M.** (2005). “Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin”. Cancer LeU, 223(2), 181-190.
22. **Shoba G., Joy D., Joseph T., Majeed M., Rajendran R., Srinivas P. S.,**1998 “Influence of Piperine on the Pharmacokinetics of Curcumin in Animals and Human Volunteers”“Planta Med”. 64, 353–6.
23. **JaggiLal,** “Curcumin and Our Life”: A Review School of Studies in Chemistry, Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci.; Volume 1 [7] June 2012: 11 - 17, Jiwaji University, Gwalior- 474 011, (M.P.) ISSN 2277 – 1808.
24. **Riela, S.; Massaro, M.; Colletti, C.G.; Bommarito, A.; Giordano, C.; Milioto, S.; Noto, R.; Poma, P.; Lazzara, G.** “ Development and Characterization of Co-Loaded Curcumin/Triazole- Halloysite Systems and Evaluation of Their Potential Anticancer Activity”. Int. J. Pharm. 2014, 475, 613–623.
25. **Delaveau P.** (1987). “Les épices. Histoire, description et usage des différent épices, aromates et condiments”. Albin Michel, Paris, 130-136.

26. **Anil K., Jyotsna D., Anup S.** “A review on spice of life *curcuma longa* (turmeric)”. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology. Volume: 2. ISSN 0976-4550:372, 2011.
27. **Pamplona – Roger G,** 2005. « Guides des plantes médicinales » ; Ed. Safeliz ; Espagne ; Vol 1 et 2 ; 796p.
28. **P de Lomas,** 2011. « Mes petites recettes magiques au Curcuma » ; Ed.s ; 205p.
29. **Humbert H,** 1946. « Flore de Madagascar et des Comores (Plantes vasculaires) » ; Ed. Imprimerie officielle Antananarivo ;
30. **Krief, S.** (2003). « Métabolites secondaires des plantes et comportement animal »: Surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés (Pan *Références bibliographique 43 troglodytes schweinfurthii*) en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. 348.
31. **Kaisermann, J,** De la médecine traditionnelle chinoise à l'époque islamique médiévale, Éditeur: Cambridge Stanford Books Traducteur: C.S.B. Equipment.
32. **SreenithiVelurajan and Vishnu Balamurugan** (2019). Phytochemical comparison of Alcoholic extract of fresh and dry *curcuma longa*, *Vol-5 Issue-3 2019 IJARIE-ISSN(O)-2395-4396*.
33. **Lee, J. H.; Chung, M. G.** “Determination of Curcuminoid Colouring Principles in Commercial Foods by HPLC”. Food Chemistry 2011, 124 (3), 1217–1222.
34. **Scotter, M. J.** “Synthesis and Chemical Characterisation of Curcuminoid Colouring Principles for Their Potential Use as HPLC Standards for the Determination of Curcumin Colour in Foods”. LWT - Food Science and Technology 2009, 42 (8), 1345–1351.
35. **Péret-Almeida, L.; Cherubino, P.F.; Alves, R.J.; Dufossé, L.; Glória, M.B.** “Separation and Determination of the Physico-Chemical Characteristics of Curcumin, Demethoxycurcumin and Bisdemethoxycurcumin”. Food Research International 2005, 38 (8-9), 1039–1044.
36. **Milind P., and Dev C.,** (2012). Orange: range of benefits. Int Res J Pharm, 3(7): 59-63.
37. **Davies, F.S. ; Albrigo,** 1994.”Citrus”. cab international, oxon, uk.
38. **Ernould A.,** (2008). Les vertus de l'oranger amer et de l'oranger doux. Diss, 1:108.

39. **Duan L., Guo L., Liu E . H. & Li P.** (2014). "Characterization and classification of seven citrus herbs by liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry and genetic algorithm optimized support vector machines". *J .chromatogr A*. 1339:27-118.
40. **Massaid F.**, «Extraction d'huile essentielle à partir des écorces des oranges-modélisation. Mémoire master en Chimie de l'Environnement, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, Algérie. (2017).42 p.
41. **Goulas V., Manganaris, G.A.,** 2012. « Exploring the phytochemical content and the antioxidant potential of Citrus fruits grown in Cyprus". *Food Chemistry*. 131, 39-47.
42. **Valnet J.** (2001). *la santé par les fruits, légumes et les céréales*. edvigot. pp: 207-281.
43. **Boukabache M et Boudjefdjouf F.Z** « Extraction, identification de l'huile essentielle par CPG-SM de l'espèce *Citrus limon* et mise en évidence de son activité antibactérienne; Fabrication du parfum». Université des Frères Mentouri Constantine. 2016. P 18.
44. **S. Munier. G. Nerovique. H. Ben Slama.C. Azagoh .R. Favet.** « Elaboration d'une crème de nuit à base d'huile essentielle de citron UE Extraction et purification de composés végétaux d'intérêt fonctionnel ».2011.P 02.
45. **Bouderbala A, Sandli R et Grana N.** « Etude du potentiel de rendement en huiles essentielles de deux espèces végétales du Nord-Est Algérien (*Eucalyptus camaldulensis et Citrus sinensis*) ». Master en Phytopharmacie et protection de végétaux, Université 8 mai 1945 Guelma, 2020.
46. **Max H.** (2008). « La route des épices : aromates, condiments et mélanges d'épices naturelles ». Ed, Sang de la terre. 190p.
47. **Abahri S.** « Caractéristiques physico chimiques de trois huiles essentielles extraites par hydrodistillation de trois plantes aromatiques (cumin, cannelle de Chine et la coriandre) »; Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou ; 2018 ; P26.
48. **Boullard B.** (2001). *Plantes médicinales de monde*. Ed, Estem.636 p.
49. **Wichtz M., Anton R.** (2003). « Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinale, science et thérapeutique ». 2ème Ed, Lavoisier. 692p.
50. فوائد القرفة / <https://www.almowaten.net/2020/11//>.
51. **Benzi F.** « L'histoire des plantes en Méditerranée : art et botanique ». Ed Actes Sud. 1999. 175 pages. Pages 80-81.

52. **Elodie W.** « Le grenadier (*Punica granatum*) : Plante Historique et évolutions thérapeutiques récentes ». Université Henri Poincaré - Nancy 1. 2009. P13.
53. **Laghouiter H** « Etude de l'activité biologique des extraits aqueux de *Punica granatum L. (Punicaceae)* et *Lawsoniainermis L. (Lythraceae)* récoltées dans le Sahara Algérien », mémoire master en Ecologie et environnement, université de Ghardaïa, 2017.
54. **Sarkhosh, A., Zamani. Z., Fatahi, R., Ebadi, A.,** 2006. « RAPD markers reveal polymorphism among some Iranian pomegranate (*Punica granatum L.*) Genotypes”. *Sci. Hortic.* 111(1), 24-29.
55. **Benyahia.,H , Hadbi.,F** ,2016, « Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grenade(PEG) par coacervation complexe (pectine/caséine): Essai d'incorporation dans le yaourt », Mémoire de Master ,Université M'hamedBougara Boumerdes,P55.
56. **Spigno G., Tramelli L., De Faveri D. M.** “Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics”. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208, 2007.
57. **Budic-Letoc I., Lovric T., Pezo I., Klujuzuric J.G.**2005 “Study of dynamics of polyphénols extraction during traditional and advanced maceration processes of the babic grape variety”. *Food Technology and Biotechnology*, 43(1): 47-53.
58. **AL-Bandak G., Oreopoulou V.**2007 “Antioxidant properties and composition of *Majoranasyriaca* extracts”. *European Journal of Lipid science and technology*, 109 (3): 247- 255.
59. **Ecribano B., Santos B.**2003 “Polyphenols extraction from foods. In *Methods in polyphénols analysis*”. Royal Society of Chemistry. Thomas Graham House, Science.
60. **Macleod J.L., Troconis N.G.** 1982 “Volatile flavour components of mango fruit”. *Phytochemistry*, 21: 2523-2526.
61. **Nicolas V.** « Contribution chimique a la definition de la qualite: exemples des spiritueux de myrte (*Myrtuscommunis l.*) et de cedrat (*Citrus medica l.*) ».Thèse de doctorat en chimie. Université de Corse-pascal Paoli. 252 p, 2012.
62. **Bruneton J.** 1999. « Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales ». 3 ème édition, Paris, Tec et Doc.
63. **S BENDIA** « Polycopié du Cours: Techniques de séparation Partie du moduleChimie Analytique” », Université Frère Mentouri Constantine 1, 2020.

Référence Bibliographiques

64. **Rakotoarizah V.N** « essai d'isolement de principes de *brachylaenaramiflora* ;universited'antananarivo ; 2004.
65. **Bettahar R.** « Extraction des huiles essentielles Analyse par FT-IR et UV-Visible ». Université Abdelhamid ibn badis Mostaganem. 2015.
66. **Romani A., Pinelli P., Cantini C., Cimato A. and Heimler D. J.** Food Chem. Vol. 95,pp. 221-225,2006.