

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1**

**Faculté des Sciences**

Département de Chimie

**THESE DE DOCTORAT-LMD**

En Chimie

Option : Chimie des Substances Naturelles et Biomolécules

**QUANTIFICATION DES ACIDES PHENOLIQUES CONTENUS DANS  
LES EXTRAITS DE PLANTES AROMATIQUES PAR  
SPECTROSCOPIE IRTF EN MODE TRANSMISSION ET ATR EN  
EXPLOITANT LA PROCEDURE DE REGRESSION PLS**

Par

**BENSEMMANE Nachida**

Devant le jury composé de :

A. Hadj-Ziane	Professeur, USD-Blida 1	Présidente
F. Zermane	Professeur, USD-Blida 1	Examinatrice
O. Arous	Professeur, USTHB	Examineur
Y. Daghbouche	Professeur, USD-Blida 1	Directrice de thèse
N. Bouzidi	Professeur, USD-Blida 1	Co-Directrice de thèse

Blida 2021

## ملخص

المركبات الفينولية هي مركبات موجودة في كل مكان توجد في جميع النباتات كمستقلبات ثانوية. تكمن أهمية هذه المركبات في آثارها الايجابية خاصة في المجال الصحي.

تم تخصيص الدراسة الأولى لتطوير طريقة جديدة ، بسيطة وسريعة لتحديد وتقدير كمية الأحماض الفينولية في وقت واحد ، مثل حمض الساليسيليك ، والفانيليك ، وبارا هيدروكسي بنزويك ، وحمض ترانس سيناميك ، وبارا-كوماريك ، والأوجينول ، والثيمول الموجودة في المستخلصات المستخرجة من النباتات الطبية. و لهدف الحصول على نموذج معايرة دقيق ، أجرينا دراسة أين قمنا بالمقارنة بين طريقتين للقياس بالأشعة تحت الحمراء أساسهما على التوالي ال ATR و الإرسال .

في هذا العمل تمت دراسة طريقتين للتحليل هما التحليل أحادي المتغير ومتعدد المتغيرات.

بالنسبة للتحليل أحادي المتغير ، تم تصحيح ارتفاعات ذروة الامتصاص المميزة بخط أساس مناسب من أطيف الأشعة تحت الحمراء ، في النطاق المتوسط ، تم قياس الأحماض الفينولية لكل مركب.

بالنسبة لمخاليط معايرة PLS-R للأحماض الفينولية ، تم تحسين نطاقات التردد والمعالجة الطيفية المسبقة وعدد المتغيرات الكامنة لتحسين القدرة التنبؤية للنماذج باستخدام تقنيات المعالجة الطيفية المختلفة بعد التمرکز المتوسط لبيانات الأشعة تحت الحمراء.

تم تحضير المستخلصات النباتية باستخدام مذيبات استخلاص الماء / الميثانول و / أو الإيثانول ، متبوعًا بالتحليل باستخدام مطياف IRTF. تم الحصول على تركيزات المركبات الفينولية الموجودة في المستخلصات باستخدام أفضل النماذج المختارة من معايرة PLS-R. قدم قياس PLS-ATR-MIR النتائج الأكثر دقة ويوفر منهجية جيدة لتحديد الأحماض الفينولية. أظهر التحليل أن مستوى الأحماض الفينولية وفينولات المونوترين في مستخلصات النباتات الطبية هو في نفس النطاق الذي تم الحصول عليه باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu ، مما يؤكد أن الطريقة التي تم تطويرها باستخدام PLS محددة للغاية وانتقائية. كان التقدير الكمي المباشر المتزامن لمختلف الأحماض الفينولية في المستخلصات النباتية المختلفة ممكنًا بفضل منهجية بسيطة وسريعة تعتمد على تحليل PLS-ATR-IRTF.

في الدراسة الثانية ، خلطات الأحماض الفينولية التي تنتمي إلى فئات مختلفة بما في ذلك أحماض هيدروكسي بنزويك (مثل حمض الغاليك وحمض الساليسيليك وحمض الفانيليك وحمض هيدروكسي بينزويك) وأحماض هيدروكسي سيناميك (مثل حمض ترانس سيناميك) وفينول مونوترين (مثل الأوجينول) تم استخدامها لإنشاء مصفوفة معايرة متعددة المتغيرات لتحديد لها لاحقًا بواسطة PLS-ATR-IRTF.

كان الهدف من هذا الجزء مكرسًا لتطوير نماذج موثوقة تسمح من ناحية بالتحديد الفردي والمتزامن للأحماض الفينولية ، ومن ناحية أخرى ، خصم المحتوى الكلي للأحماض الفينولية الموجودة في المستخلصات ثمانية عشر نباتًا عطريًا ، باستخدام نفس مصفوفة المعايرة. تم قياس ارتفاعات ذروة الامتصاص المميزة لأطياف الأشعة تحت الحمراء المتوسطة للأحماض الفينولية الفردية ، المحضرة في الإيثانول النقي ، بين 1566 و 563 سم<sup>-1</sup> باستخدام نطاق طيفي داخل منطقة مناطق ديصمات الأصابع بين 1500 و 400 سم<sup>-1</sup> بينما تم اختيار ممثل النطاق المشترك للأحماض الفينولية الكلية بين 1737 و 1624 سم<sup>-1</sup>.

للمعايرة متعددة المتغيرات ، تم استخدام انحدار المربعات الصغرى الجزئي (PLS-R) الذي يشتمل على مجموعة مخفضة من 6<sup>2</sup> كتنصميم تجريبي ، ويتوافق مع المركبات الستة التي تم النظر فيها عند مستويين من التركيز. تم اختيار نطاقات التردد والمعالجة المسبقة للأطياف وعدد المتغيرات الكامنة لتحسين القدرة التنبؤية لنماذج PLS المدروسة. تم أيضًا اختبار تقنيات المعالجة الطيفية المختلفة بعد التمرکز المتوسط لبيانات الأشعة تحت الحمراء. تم تحضير المستخلصات النباتية عن طريق الاستخلاص البسيط بالنقع في الإيثانول متبوعًا بالتحليل بواسطة مطياف ATR-IRTF. تم الحصول على تراكيز المركبات الفينولية والأحماض الفينولية الكلية في المستخلصات عن طريق تنبؤ خارجي باستخدام أفضل نموذج PLS ثم تمت مقارنتها مع القيم المرجعية التي تم الحصول عليها بطريقة Folin-Ciocalteu.

الكلمات المفتاحية: مطياف ATR-IRTF ، انحدار المربعات الصغرى الجزئية (PLS) ، طريقة Folin-Ciocalteu ، الأحماض الفينولية الكلية ، أحماض هيدروكسي بنزويك الفينولية ، أحماض هيدروكسي سيناميك الفينولية ، أحماض الفينول أحادية التيرين ، المستخلصات النباتية.

## RESUME

Les composés phénoliques sont des composés omniprésents trouvés dans toutes les plantes en tant que métabolites secondaires. Les phénols sont de plus en plus importants en raison notamment de leurs effets bénéfiques sur la santé.

La première étude a été consacrée au développement d'une nouvelle méthode simple et rapide par spectrométrie IRTF pour la quantification simultanée et directe des acides phénoliques, comme les acides salicylique, vanillique, *p*-hydroxybenzoïque, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'eugénol et le thymol dans différents extraits de plantes médicinales.

Pour fournir un modèle d'étalonnage fidèle, une étude comparative a été réalisée entre deux méthodes de mesures infrarouges basées sur l'ATR et la transmission.

Dans ce travail, deux méthodes d'analyse ont été étudiées : l'analyse monovariante et multivariante.

Pour l'analyse monovariante, les hauteurs de pic d'absorbance caractéristiques des spectres infrarouges corrigés avec une ligne de base adéquate, dans le domaine du moyen, des acides phénoliques ont été mesurées pour chaque composé.

Pour les mélanges de calibration PLS-R des acides phénoliques, les gammes de fréquences, le prétraitement spectral et le nombre de variables latentes ont été optimisés pour améliorer la capacité de prédiction des modèles utilisant différentes techniques de prétraitement spectral après centrage moyen des données infrarouges.

Des extraits de plantes ont été préparés en utilisant deux solvants d'extraction eau/méthanol et l'éthanol, suivis d'une analyse par spectrométrie IRTF. Les concentrations en composés phénoliques contenus dans les extraits ont été obtenues en exploitant les meilleurs modèles sélectionnés de l'étalonnage PLS-R. La mesure PLS-ATR-MIR a fourni les résultats les plus précis et juste en offrant, ainsi, une bonne méthodologie fiable pour la détermination des acides phénoliques. L'analyse a montré que le taux d'acides phénoliques et de phénols monoterpéniques dans les extraits de plantes médicinales se situe dans la même fourchette que celle obtenue avec la méthode Folin-Ciocalteu, ce qui confirme que la méthode développée à l'aide de la PLS est donc très spécifique et sélective.

Dans la deuxième étude, des mélanges d'acides phénoliques appartenant à différentes classes dont les acides hydroxybenzoïques (comme l'acide gallique, l'acide salicylique, l'acide vanillique et l'acide *p*-hydroxybenzoïque) et les acides hydroxycinnamiques (comme l'acide *trans*-cinnamique) et les phénols monoterpéniques (comme l'eugénol) ont été utilisés pour construire une matrice de calibration multivariée pour leurs détermination ultérieure par PLS-ATR-IRTF.

L'objectif de cette partie a été dédié à développer des modèles fiables permettant d'un côté la détermination individuelle et simultanée des acides phénoliques, et d'un autre côté, la déduction de la teneur totale en acides phénoliques présents dans les extraits de dix-huit plantes aromatiques, et ce, en utilisant la même matrice de calibration. Les hauteurs de pics d'absorbance caractéristiques des spectres infrarouges moyens des acides phénoliques individuels, préparés dans de l'éthanol pur, ont été mesurés entre 1566 et 563  $\text{cm}^{-1}$  en utilisant une gamme spectrale comprise dans la région des zones d'empreintes digitales entre 1500 et 400  $\text{cm}^{-1}$  alors que la bande commune représentatif des acides phénoliques totaux a été choisi entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ .

Pour la calibration multivariée, une régression partielle des moindres carrés (PLS-R) comprenant un ensemble réduit de 6<sup>2</sup> comme plan expérimental, et correspondant aux six composés considérés à deux niveaux de concentration, a été utilisée. Les gammes de fréquences, le prétraitement des spectres et le nombre de variables latentes ont été sélectionnés pour améliorer la capacité de prédiction des modèles PLS étudiés. Différentes techniques de prétraitement spectral après centrage moyen des données infrarouges ont également été testées. Des extraits de plantes ont été préparés par une simple extraction par macération dans l'éthanol suivi d'une analyse par spectrométrie ATR-IRTF. Les concentrations en composés phénoliques et en acides phénoliques totaux dans les extraits ont été obtenues par une prédiction externe à l'aide du meilleur modèle PLS et ont ensuite été comparées aux valeurs de référence obtenues par la méthode Folin-Ciocalteu.

**Mots clés:** Spectrométrie ATR-IRTF, régression des moindres carrés partiels (PLS), méthode Folin-Ciocalteu, acides phénoliques totaux, acides phénoliques hydroxybenzoïques, acides phénoliques hydroxycinnamiques, phénols monoterpéniques, extraits de plantes.

## ABSTRACT

Phenolic compounds are ubiquitous compounds found in all plants as secondary metabolites. Phenols are increasingly important because of their beneficial effects on health.

The first study was devoted to the development of a new simple and fast method by FTIR spectrometry for the simultaneous and direct quantification of phenolic acids, such as salicylic, vanillic, *p*-hydroxybenzoic, *trans*-cinnamic and *p*-coumaric acids, eugenol, and thymol in different extracts of medicinal plants.

To provide a faithful calibration model, a comparative study was carried out between two infrared measurement methods based on ATR and transmission.

In this work, two analysis methods were studied: monivariate and multivariable analysis.

For the monivariate analysis, characteristic absorbance peak heights of infrared spectra corrected with an adequate baseline in the medium range, phenolic acids were measured for each compound.

For the PLS-R calibration mixtures of phenolic acids, the frequency ranges, different spectral data processing, and the number of latent variables had been optimized to improve the predictive capacity of models using different spectral preprocessing techniques after mean centering of the infrared data.

Plant extracts were prepared using two extraction solvents, water / methanol and ethanol, followed by analysis by FTIR spectrometry. The concentrations of phenolic compounds contained in the extracts were obtained using the best models selected from the PLS-R calibration. The PLS-ATR-MIR measurement provided the most accurate results, thus providing a good reliable methodology for the determination of phenolic acids. The analysis showed that the level of phenolic acids and monoterpene phenols in the extracts of medicinal plants is in the same range as that obtained with the Folin-Ciocalteu method, which confirms that the method developed using the PLS is therefore very specific and selective.

In the second study, mixtures of phenolic acids belonging to different classes including hydroxybenzoic acids (such as gallic acid, salicylic acid, vanillic acid, and *p*-

hydroxybenzoic acid) and hydroxycinnamic acids (like trans-cinnamic acid) and monoterpene phenols (like eugenol) were used to construct a multivariate calibration matrix for their subsequent determination by PLS-ATR-FTIR.

The objective of this part was dedicated to developing reliable models allowing on the one hand the individual and simultaneous determination of phenolic acids, and on the other hand, the deduction of the total content of phenolic acids present in the extracts of eighteen aromatic plants, using the same calibration matrix. The absorbance peak heights characteristic of the mean infrared spectra of the individual phenolic acids, prepared in pure ethanol, were measured between 1566 and 563  $\text{cm}^{-1}$  using a spectral range included in the fingerprint area between 1500 and 400  $\text{cm}^{-1}$  whereas the common band representative of total phenolic acids was chosen between 1737 and 1624  $\text{cm}^{-1}$ .

For the multivariate calibration, a partial least squares regression (PLS-R) comprising a reduced set of  $6^2$  as an experimental design, and corresponding to the six compounds considered at two concentration levels, was used. The frequency ranges, the preprocessing of the spectra, and the number of latent variables were selected to improve the predictive capacity of the PLS models studied. Different spectral preprocessing techniques after mean centering of infrared data were also tested. Plant extracts were prepared by simple extraction by maceration in ethanol followed by analysis by ATR-FTIR spectrometry. The concentrations of phenolic compounds and total phenolic acids in the extracts were obtained by an external prediction using the best PLS model and were then compared with the reference values obtained by the Folin-Ciocalteu method.

Keywords: ATR-FTIR spectrometry, partial least squares (PLS) regression, Folin-Ciocalteu method, total phenolic acids, phenolic hydroxybenzoic acids, phenolic hydroxycinnamic acids, monoterpene phenols, plant extracts.

## DEDICACES

À mon très cher père, paix à son âme, qui a toujours été là pour moi et qui m'a tout appris avec tout son amour et sa tendresse, ainsi qu'à ma très chère mère qui m'a toujours soutenue dans tous les moments de la vie, qui m'a donné mes plus belles années avec amour et tendresse et qui m'a appris ce qu'est le courage et la force de se battre. Merci à eux deux pour leurs sacrifices et leur bonne éducation.

À mon très cher frère, qui a toujours été présent à mes côtés et qui veille toujours sur moi.

À ma famille pour leur soutien sans faille et qui ne m'ont jamais oublié.

Enfin je souhaiterais dédier ce travail à mes amis, au nom de l'amitié qui nous réunit et au nom de nos souvenirs inoubliables, qui n'ont jamais cessés de me soutenir et à toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

## Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu tout-puissant de m'avoir donnée le courage et la patience de mener à terme ce travail.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Biomolécules (LCSN-BioM), laboratoire du département de chimie, faculté des sciences, Université Saad-Dahlab Blida 1 ainsi qu'au laboratoire de chimie analytique à l'Université de Valencia, en Espagne, sous la direction de Madame **Y. Daghbouche** et de Madame **N. Bouzidi**, Professeurs à l'université de Blida.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Madame **Y. Daghbouche** et à Madame **N. Bouzidi** pour avoir dirigé mon travail avec un grand intérêt, pour avoir toujours été disponible pour discuter des problèmes rencontrés et des orientations à suivre. Je les remercie également pour l'aide scientifique précieuse et tous les conseils qu'elles ont pu me fournir pendant la réalisation de cette thèse, avec leurs enthousiasmes et leurs dynamismes.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent également à Monsieur **M. De la Guardia** et à Monsieur **S. Garrigues**, professeurs à l'université de Valencia en Espagne, qui m'ont gentiment accueilli au sein leurs laboratoire, qui ont toujours étaient ouvert à la discussion, pour leurs disponibilité, leurs conseils scientifiques efficaces qu'ils m'ont prodigués tout au long de mon stage chez eux ainsi que leurs regards objectif sur le sujet.

Mes remerciements vont également envers Monsieur **M. El Hattab**, Professeur à l'université de Blida pour m'avoir accueillie dans son laboratoire. Je le remercie pour ses précieux conseils.

J'adresse mes vifs remerciements à Madame **A. Hadj-Ziane**, Professeur à l'université de Blida pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Je remercie également Madame **F. Zermane**, Professeur à l'université de Blida et Monsieur **O. Arous**, maître de conférence A à l'U.S.T.H.B, qui me font l'honneur d'accepter de juger cette thèse.

Que mes amis de promotion trouvent mes remerciements les plus sincères pour leur aide et leur soutien.

**APPENDICE A**  
**LISTE DES ABREVIATIONS**

A :	Absorbance
ATR :	Attenuated total reflectance
cm :	Centimètre
CCl <sub>4</sub> :	Tétrachlorométhane
CG :	Chromatographie en phase gazeuse
CG-SM :	Chromatographie en phase gazeuse couplés à la spectroscopie de masse
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> :	Dichlorométhane
CL :	Chromatographie en phase liquide sur colonne
CL-MS :	Chromatographie liquide couplés à la spectroscopie de masse
CV :	Coefficient de variance
°C :	Degrés Celsius
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
EDTA :	Acide éthylènediaminetétraacétique
EtOH :	Ethanol
g :	Gramme
HPLC :	Chromatographie liquide à haute performance
IRTF :	Infrarouge à transformée de Fourier
LD :	Limite de détection
LQ :	Limite de quantification
LWR :	Régression localement pesée
MeOH :	Méthanol
mg :	Milligramme
MIR :	Middle infrared Infrarouge moyen
mL :	Millilitre

MLR :	Régression linéaire multiple
NIR :	Near infrared Infrarouge proche
NN :	Régression de réseaux neurologiques
PCR :	Régression de composant principal
PLS :	Partial least square Régression des moindres carrés partiels
R :	Coefficient de régression
RBF-PLS :	Fraction de base radiale combinée avec PLS
RMSEC :	Root mean square error of calibration Erreur quadratique moyenne de calibration
RMSECV :	Root mean square error of cross validation Erreur quadratique moyenne de la validation croisée
RMSEP :	Root mean square error of prediction Erreur quadratique moyenne de prédiction
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
SAA :	Spectrométrie d'absorption atomique
SPIR :	Spectrométrie Proche Infra-Rouge
UPLC :	Ultra Performance Liquid Chromatography Chromatographie liquide ultra performante
UV-Vis :	Spectroscopie ultraviolet-visible
Vis-SPIR :	Spectroscopie visible couplés à la Spectrométrie proche infrarouge
V/V :	Proportions volumiques
μl :	Microlitre

# TABLE DES MATIERES

RESUME		
TABLE DES MATIERES		
LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX		
INTRODUCTION		01
<b>CHAPITRE 1 : PARTIE THEORIQUE</b>		
1.1	Plantes médicinales et aromatiques	05
1.1.1	Plantes médicinales	05
1.1.2	Plantes aromatiques	06
1.2	Composantes chimiques principales des plantes	07
1.2.1	Métabolites primaires	08
1.2.2	Métabolites secondaires	08
1.3	Composés phénoliques	09
1.3.1	Distribution et biosynthèses des composés phénoliques dans le règne végétal	09
1.3.2	Intérêts des composés phénoliques	12
1.3.3	Classification des composés antioxydants phénoliques	12
1.3.3.1	Antioxydants phénoliques naturels	12
1.3.3.1.1	Acides phénoliques	12
1.3.3.1.2	Flavonoïdes	13
1.3.3.1.3	Tanins	13
1.3.3.1.4	Stilbènes	13
1.3.3.2	Antioxydants phénoliques synthétiques	14
1.3.4	Les acides phénoliques	14
1.3.4.1	Classification des acides phénoliques	14
1.3.4.2	Intérêts des acides phénoliques	24
1.3.4.3	Source et rôles des acides phénoliques dans les plantes	25
1.3.4.4	Source et rôles des acides phénoliques chez l'homme	25
1.4	Analyse qualitative et quantitative et calibration par spectroscopie IRTF	26
1.4.1	Principe de la calibration monovariante	27
1.4.1.1	Caractéristiques analytiques d'étalonnage	29

1.4.1.1.1	Sensibilité	29
1.4.1.1.2	Limite de détection (LD)	30
1.4.1.1.3	Limite de quantification (LQ)	30
1.4.1.1.4	Linéarité	30
1.4.1.1.5	Protocole de base et calculs	31
1.4.1.1.6	Coefficient de variance CV (%) ou DSR	31
1.4.1.1.7	Spécificité	31
1.4.2	Principe de la calibration multivariée PLS (partial least square)	32
1.4.2.1	Validation des modèles PLS	34
1.4.2.2	Validation croisée	34
1.4.2.3	Validation de l'ensemble de test	35
1.4.3	Paramètres analytique et d'optimisation de validation d'un modèle PLS	35
1.5	Apport des méthodes PLS-IRTF dans le domaine de la chimie verte	36
1.6	Procédés d'extraction des composés phénoliques	39
1.7	Méthodes d'analyses et de quantifications des composés phénoliques	45
1.7.1	Dosage des phénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu	45
1.7.2	Analyse et dosage par les méthodes chromatographiques	47
1.7.3	Analyse et dosage par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	48
1.8	Abondance des acides phénoliques dans les plantes et végétaux	50
1.9	Travaux effectués sur les acides phénoliques	60
1.9.1	Acide férulique	60
1.9.2	Acide salicylique	61
1.9.3	Acides cinnamiques	62
1.9.4	Acide 3-hydroxybenzoïque	62
1.9.5	Acide gentisique	62
1.9.6	Acide gaulois	63
1.9.7	Acide vanillique	63
1.9.8	Acide sinapique	63
1.9.9	Acide Digallique	64
1.9.10	Acides diféruliques	64
1.9.11	Acide rosmarinique	65

**CHAPITRE 2**

**QUANTIFICATION DES ACIDES PHENOLIQUES PAR SPECTROSCOPIE  
INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER EN UTILISANT LA METHODE DES  
MOINDRES CARRS PARTIELS (PLS-IRTF) DANS LES EXTRAITS DE PLANTES  
MEDICINALES**

2.1	Introduction	66
2.2	Partie expérimentale	68
2.2.1	Appareils et logiciels	68
2.2.2	Réactifs et produits	69
2.2.3	Extraits de plantes	69
2.2.4	Préparation de solutions étalons	70
2.2.4.1	Cas de la calibration monovariée	70
2.2.4.2	Cas de la calibration multivariée	71
2.2.4.2.1	Préparation des matrices de calibration	71
2.2.4.2.2	Préparation de la matrice de validation des modèles PLS-ATR/Transmission-IRTF	74
2.2.5	Mesure en mode IRTF-transmission	76
2.2.6	Mesure en mode ATR-IRTF	76
2.2.7	Détermination de la teneur en phénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu	77
2.3	Résultats et discussion	78
2.3.1	Spectres IRTF des composés phénoliques et des phénols monoterpéniques	78
2.3.2	Calibration monovariée	85
2.3.2.1	Calibration monovariée en mode Transmission-IRTF	85
2.3.2.1.1	Calibration monovariée des acides phénoliques et des phénols simple et monoterpénique étudiés	85
2.3.2.1.2	Paramètre analytiques des acides phénoliques et des phénols simple et mono terpénique étudiés	90
2.3.2.1.3	Sélection des conditions spectrales	92
2.3.2.1.4	Choix des bandes spécifiques pour chaque standard	92
2.3.2.1.5	Sélection des modèles d'intégration	94
2.3.2.2	Calibration monovariée en mode ATR-IRTF	99
2.3.2.2.1	Calibration monovariée des acides phénolique ainsi que des phénols simples et mono terpénique	99
2.3.2.2.2	Paramètres analytiques des acides phénoliques et des phénols simple et mono terpénique étudiés	103
2.3.3	Calibration multivariée PLS-IRTF	106

2.3.3.1	Calibration multivariée PLS-Transmission-IRTF	106
2.3.3.1.1	Calibration multivariée PLS-Transmission-IRTF des acides phénoliques de la même classe	106
2.3.3.1.2	Calibration multivariée FTIR-Transmission-PLS des acides phénoliques de différentes classes (mélange d'acides hydroxybenzoïques et de phénols mono terpéniques)	115
2.3.3.1.3	Calibration multivariée IRTF-Transmission-PLS des acides phénoliques de différentes classes (mélanges d'acides hydroxybenzoïques et d'acides hydroxycinnamiques)	125
2.3.3.2	Calibration multivariée PLS-ATR-IRTF	136
2.3.3.2.1	Calibration multivariée PLS- ATR-IRTF des acides phénoliques de la même classe	136
2.3.3.2.2	Calibration multivariée PLS de mélanges d'acides phénoliques de différentes classes par mesures ATR-IRTF	146
2.3.4	Détermination de la teneur phénolique totale par la méthode Folin-Ciocalteu	160
2.3.5	Composition phénolique d'extraits de plantes par mesures ATR et Transmission-IRTF	161
2.3.6	Évaluation verte de la méthodologie développée ATR-IRTF-MIR et transmission-IRTF	165
2.4	Conclusion	167

### **CHAPITRE 3**

#### **QUANTIFICATION DES ACIDES PHENOLIQUES SPECIFIQUES ET DEDUCTION DES ACIDES PHENOLIQUES TOTAUX CONTENUS DANS LES EXTRAITS DES PLANTES AROMATIQUES PAR PLS-IRTF-ATR**

3.1	Introduction	168
3.2	Partie expérimentale	170
3.2.1	Appareils et logiciels	170
3.2.2	Réactifs	170
3.2.3	Préparation des mélanges de la matrice de calibration	170
3.2.4	Préparation de la matrice de validation des méthodes PLS-ATR-IRTF	174
3.2.5	Extraits végétaux	176
3.2.6	Analyse des solutions ATR-IRTF	176
3.2.7	Traitement des données	176
3.3	Résultats et discussions	177
3.3.1	Spectres IRTF des composés phénoliques	177

3.3.2	Étalonnage PLS des mélanges d'acides phénoliques des six standards	180
3.3.3	Analyse de chaque acide phénolique présent dans les différents mélanges d'échantillons synthétiques par prédiction interne	197
3.3.4	Étalonnage, validation et prédiction PLS-ATR-IRTF des meilleurs modèles d'acides phénoliques totaux	202
3.3.5	Analyse des acides phénoliques totaux dans des échantillons synthétiques en utilisant la prédiction interne	204
3.3.6	Erreur relative calculée de chaque étalon par prédiction interne avec la même plage sélectionnée pour les acides phénoliques totaux à $1737-1624\text{cm}^{-1}$	206
3.3.7	Quantification du phénol spécifique et déduction des acides phénoliques totaux contenus dans les extraits de plantes par spectres PLS-ATR-IRTF d'extraits de plantes aromatiques	208
3.4	Conclusion	212

CONCLUSION GENERALE

PERSPECTIVES

REFERENCES

PUBLICATION ET COMMUNICATIONS

LISTE DES ILLUSTRATIONS GRAPHIQUES ET TABLEAUX  
LISTE DES FIGURES

Figure 1.1.	Tracé de courbe d'étalonnage montrant des paramètres analytique de la calibration monovariée	28
Figure 1.2.	Courbes d'étalonnage de la calibration monovariée	29
Figure 1.3.	Position de la régression PLS dans le large domaine de la chimiométrie	32
Figure 1.4.	Certificat vert « Green certificate » utilisé pour la classification des différentes méthodes analytiques	37
Figure 2.1.	Montage IRTF utilisé pour l'analyse des solutions en mode flux discontinue (Stop-Flow)	69
Figure 2.2.	Protocole d'extraction de la fraction riche en composés phénoliques à partir du matériel végétal.	70
Figure 2.3.	Procédé de dosage selon Bellebcir modifié.	77
Figure 2.4.	Spéctres ATR-IRTF et spéctres de transmission-IRTF de l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque ( <b>A1</b> ), de l'acide <i>p</i> -coumarique ( <b>A2</b> ), de l'acide salicylique ( <b>A3</b> ), de l'acide <i>trans</i> -cinnamique ( <b>A4</b> ), de l'acide vanillique ( <b>A5</b> ), de l'eugénol ( <b>A6</b> ) et du thymol ( <b>A7</b> ) dans de l'éthanol pour l'ATR et du CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtOH (90:10 v/v) pour la transmission à une concentration de 5mg mL <sup>-1</sup> pour chaque mode.	82
Figure 2.5.	Spéctres d'un mélange synthétique de 1,00, 1,20 et 0,60 mg mL <sup>-1</sup> pour l'acide salicylique, <i>p</i> -hydroxybenzoïque et vanillique, respectivement, mesurés par ATR après séchage de 1 µl d'une solution d'EtOH (A) et par transmission dans CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtOH (90:10 v/v) (B).	83
Figure 2.6.	Spéctres IRTF-transmission de la série d'étalonnage des 7 standards considérés dans CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtOH (90:10 v/v) dans le domaine de concentrations de 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 et 5.00 mg mL <sup>-1</sup> , à savoir ; A) l'acide salicylique, B) l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, C) l'acide <i>p</i> -coumarique, D) l'acide <i>trans</i> -cinnamique, E) l'acide vanillique, F) l'eugénol et G) le thymol.	89
Figure 2.7.	Spéctres IRTF/Transmission de sept solutions étalons individuelles : (Bleu) acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, (Rouge) acide salicylique, (Rose) eugénol, (Violet) thymol, (Bleu foncé) acide vanillique, (Bleu-vert) acide <i>trans</i> -cinnamique, (Vert) acide <i>p</i> -coumarique à une concentration de 10 mg.ml <sup>-1</sup> dans CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtOH (90:10 v/v).	93
Figure 2.8.	Modèles d'intégration intégrés dans le logiciel Quant 1 de l'OPUS	94
Figure 2.9.	Spéctres ATR-IRTF de la série d'étalonnage des 7 standards considérés dans l'EtOH dans le domaine de concentrations de 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 et 5.00 mg mL <sup>-1</sup> , à savoir ; A) l'acide gallique, B) l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, C) l'acide salicylique, D) l'acide <i>trans</i> -cinnamique, E) l'acide vanillique, F) l'eugénol et G) le thymol.	103
Figure 2.10.	Spéctres PLS-FTIR-Transmission des acides phénoliques de même classe (acide salicylique, acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et acide vanillique)	107

	des huit mélanges de la calibration préparés dans un mélange de solvants de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH ((90:10 v/v).	
Figure 2.11.	Spectres PLS-IRTF-Transmission des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, eugénol et thymol) des seize mélanges de calibration préparés dans un mélange de solvants de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH ((90:10 v/v).	116
Figure 2.12.	Spectres PLS-IRTF-Transmission des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, acide <i>trans</i> -cinnamique et acide <i>p</i> -coumarique) des seize mélanges de calibration préparés dans un mélange de solvants de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH ((90:10 v/v).	126
Figure 2.13.	Spectres PLS-ATR-IRTF des acides phénoliques de même classe (acide salicylique, acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et l'acide vanillique) de huit mélanges de calibration préparés dans de l'éthanol.	137
Figure 2.14.	Spectres PLS-IRTF-ATR des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, eugénol et thymol) de seize mélanges de calibration préparés dans l'éthanol.	148
Figure 2.15.	Courbe de calibration de l'acide gallique dans une gamme de 2 à 80 µg mL <sup>-1</sup> .	161
Figure 2.16.	Spectres IRTF/Transmission d'extraits de cannelle, de clou de girofle, d'origan, de romarin et de thym dans H <sub>2</sub> O/MeOH à volume égal pendant 72h, suivi d'une filtration sur papier Whatman et d'une évaporation à sec rotatif à 45°C et par dilution de 25 mg pour chaque extraits dans 5 ml de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> : EtOH (90:10 v/v).	162
Figure 2.17.	Spectres IRTF/ATR d'extraits d'origan, de romarin et de thym en faisant macérer 0,5 g de plantes sèches dans 2 ml d'éthanol pendant 72 heures.	162
Figure 2.18.	Évaluation écologique des méthodologies de transmission-IRTF et ATR-IRTF-MIR.	165
Figure 3.1.	A1. Spectres ATR-IRTF des solutions étalons individuelles contenant 25 mg mL <sup>-1</sup> d'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, d'acide salicylique, d'acide vanillique, d'acide <i>trans</i> -cinnamique, d'acide gallique et d'eugénol dans l'éthanol pur. Zoom de la gamme spectrale de tous les standards de 1912-1487 cm <sup>-1</sup> (A1), 1737 à 1624 cm <sup>-1</sup> (A2) et 1737-1642 cm <sup>-1</sup> (A3).	180
Figure 3.2.	Spectres ATR-IRTF de trente-six mélanges de calibration (M <sub>1</sub> -M <sub>36</sub> ) (A1-A5) composé d'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, de l'acide salicylique, de l'acide vanillique, de l'acide <i>trans</i> -cinnamique, de l'acide gallique et d'eugénol.	183
Figure 3.3.	Les spectres ATR-IRTF des extraits éthanolique de clou de girofle, cannelle, anis étoilé, anis, coriandre, basilic, cumin, écorce de grenade et marc de café (A1). De thym, origan, romarin, marjolaine, pépins de raisin, piment rouge, poivre noir, sauge et thé vert (A2).	209
Figure 3.4.	Quantification des acides phénoliques spécifiques et déduction des acides phénoliques totaux contenus dans les dix-huit extraits (A1, A2, A3 et A4) par prédiction externe en utilisant la PLS-ATR-IRTF.	211

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1.	Classification des antioxydants phénoliques.	15
Tableau 1.2.	Principaux acides phénoliques dérivés des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques, les phénylpropènes (phénylpropanoïdes) et les phénols simples.	22
Tableau 1.3.	Les points de pénalité pour les risques de certains réactifs.	38
Tableau 1.4.	Les points de pénalité pour l'énergie de certaines techniques d'analyse.	38
Tableau 1.5.	Solubilité des phénols les plus répandus dans la nature <sup>(*)</sup> .	39
Tableau 1.6.	Solvants organiques utilisés pour l'extraction des polyphénols.	43
Tableau 1.7.	Travaux effectués sur les phénols les plus répandus dans la nature <sup>(*)</sup> .	50
Tableau 2.1.	Composition des solutions étalons à 10 mg mL <sup>-1</sup> de l'acide salicylique, des acides <i>p</i> -hydroxybenzoïques, de l'acide vanillique, de l'acide gallique, de l'acide <i>trans</i> -cinnamique, de l'acide <i>p</i> -coumarique, de l'eugénol et du thymol.	71
Tableau 2.2.	Modèle PLS I de même classe (matrice de calibration avec un plan expérimental de 2 <sup>3</sup> ).	72
Tableau 2.3.	Modèle PLS II d'acide phénoliques de différentes classes (matrice de calibration avec un plan expérimental de 2 <sup>4</sup> ).	72
Tableau 2.4.	Modèle PLS III de différentes classes phénoliques (matrice de calibration avec un plan expérimental de 2 <sup>4</sup> ).	73
Tableau 2.5.	Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS I.	75
Tableau 2.6.	Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS II.	75
Tableau 2.7.	Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS III.	76
Tableau 2.8.	Paramètres analytiques des phénols étudiés dans le CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH par Transmission-IRTF aux bandes spécifiques et en considérant le mode d'intégration R.	91
Tableau 2.9.1.	Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.	95
Tableau 2.9.2.	Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'eugénol et le thymol.	96
Tableau 2.9.3.	Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'acide <i>p</i> -coumarique, de l'acide <i>trans</i> -cinnamique et de l'acide salicylique.	97
Tableau 2.10.	Valeurs des intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour les sept étalons étudiés.	98
Tableau 2.11.	Paramètres analytiques des phénols étudiés dans le EtOH par ATR-IRTF aux bandes spécifiques sélectionnées et en considérant le mode d'intégration R.	104
Tableau 2.12.	Analyse d'échantillons synthétiques par mesures MIR-Transmission et MIR-ATR.	105
Tableau 2.13.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par PLS- transmission-IRTF.	108

Tableau 2.14.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide vanillique par PLS- transmission-IRTF.	110
Tableau 2.15.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide salicylique par PLS- transmission-IRTF.	112
Tableau 2.16.	Récapitulatif des meilleurs modèles optimisés pour l'analyse des acides phénoliques de mêmes classes (les acides hydroxybenzoïques) par PLS-transmission-IRTF.	114
Tableau 2.17.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par PLS-transmission-IRTF.	116
Tableau 2.18.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide salicylique par PLS-transmission-IRTF.	118
Tableau 2.19.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'eugénol par PLS-transmission-IRTF.	120
Tableau 2.20.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour le thymol par PLS-transmission-IRTF.	122
Tableau 2.21.	Modèles sélectionnés par PLS pour l'étalonnage et la prédiction des meilleurs modèles pour la série de cinq échantillons supplémentaires dilués dans un mélange de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH (90:10).	124
Tableau 2.22.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par PLS-transmission-IRTF.	126
Tableau 2.23.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide salicylique par PLS-transmission-IRTF.	128
Tableau 2.24.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide trans-cinnamique par PLS-transmission-IRTF.	130
Tableau 2.25.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide <i>p</i> -coumarique par PLS-transmission-IRTF.	132
Tableau 2.26.	Modèles sélectionnés par PLS pour l'étalonnage et la prédiction des meilleurs modèles pour la série de cinq échantillons supplémentaires par des mesures de transmission dans un mélange de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH (90:10).	134
Tableau 2.27.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par PLS-ATR-IRTF.	138
Tableau 2.28.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour l'acide salicylique par PLS-ATR-IRTF.	140
Tableau 2.29.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide vanillique par PLS-ATR-IRTF.	142
Tableau 2.30.	Caractéristiques des modèles PLS basés sur l'utilisation de mesures ATR sur des spectres de film séché pour la prédiction d'échantillons synthétiques.	144
Tableau 2.31.	Comparaison de la concentration prévue en utilisant la méthode PLS-IRTF-ATR et des valeurs réelles d'échantillons synthétiques supplémentaires en appliquant respectivement le mod.4, le mod.5 et le mod.6 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, indiqué dans le tableau 2.30.	145

Tableau 2.32.	Comparaison entre les concentrations réelles d'échantillons synthétiques et les données obtenues par PLS-IRTF-transmission et PLS-IRTF-ATR en appliquant respectivement le mod.1, le mod.2 et le mod.3 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, illustré dans le tableau 2.30 et mod.1, mod.2 et mod.3 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, respectivement, présentés dans le tableau 2.30.	146
Tableau 2.33.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par PLS-ATR-IRTF.	148
Tableau 2.34.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour l'acide salicylique par PLS-ATR-IRTF.	150
Tableau 2.35.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'eugénol par PLS-ATR-IRTF.	152
Tableau 2.36.	Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour le thymol par PLS-ATR-IRTF.	154
Tableau 2.37.	Modèles PLS sélectionnés d'acides phénoliques de différentes classes par ATR-IRTF sur film éthanolique.	156
Tableau 2.38.	Comparaison entre les concentrations réelles de la première série d'échantillons synthétiques et théoriques prédites par transmission et ATR-IRTF en appliquant les mod.1, mod.3, mod.5 et mod.7 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, respectivement, présentés dans le tableau 2.21, et mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, respectivement, montrés dans le tableau 2.37.	159
Tableau 2.39.	Comparaison entre les concentrations réelles d'échantillons synthétiques supplémentaires (deuxième série) et les résultats prédits par ATR-IRTF en appliquant respectivement les mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 pour l'acide salicylique, l'acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, illustré dans le tableau 2.37.	160
Tableau 2.40.	Concentration des extraits de plantes en phénols totaux selon la méthode Folin-Ciocalteu.	161
Tableau 2.41.	Quantification des composés phénoliques contenus dans les extraits de plantes par prédiction externe.	164
Tableau 2.42.	Évaluation écologique (Green Evaluation) de la méthodologie de transmission-IRTF développée.	166
Tableau 2.43.	Évaluation écologique de la méthode ATR-IRTF-MIR.	166
Tableau 3.1.1.	Composition des mélanges M01-M12 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant au modèle PLS de 6 <sup>2</sup> .	171
Tableau 3.1.2.	Composition des mélanges M13-M24 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant au modèle PLS de 6 <sup>2</sup> .	172
Tableau 3.1.3.	Composition des mélanges M25-M36 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant	173

	au modèle PLS de $6^2$ .	
Tableau 3.2.	Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation).	175
Tableau 3.3.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide <i>para</i> -hydroxybenzoïque par ATR-IRTF.	184
Tableau 3.4.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide gallique par ATR-IRTF.	186
Tableau 3.5.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide salicylique par ATR-IRTF.	188
Tableau 3.6.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide <i>trans</i> -cinnamique par ATR-IRTF.	190
Tableau 3.7.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide vanillique par ATR-IRTF.	192
Tableau 3.8.	Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'eugénol par ATR-IRTF.	194
Tableau 3.9.	Récapitulatif des paramètres analytiques de calibration, validation et prédiction des meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF des six standards étudiés.	196
Tableau 3.10.	Composition chimique de chaque mélange synthétique.	197
Tableau 3.11.	Erreurs relatives ( $E_r$ ) obtenues pour la prédiction de chaque composé considéré dans différents mélanges synthétiques en utilisant les modèles PLS présentés dans le tableau 3.9.	198
Tableau 3.12.	Récapitulatif du tableau 3.11 des montrant les meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF spécifique à chaque étalon dans les différents mélanges synthétiques en utilisant les modèles PLS présentés dans le tableau 3.9.	199
Tableau 3.13.	Modèle optimal et zones spectrales de chaque acide phénolique standard et total.	202
Tableau 3.14.	Paramètres analytiques de calibration, validation et prédiction des meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF des acides phénoliques totaux.	203
Tableau 3.15.	Analyse des acides phénoliques totaux dans les mélanges synthétiques par prédiction interne.	205
Tableau 3.16.	$E_r$ calculé de chaque étalon par prédiction interne à $1737-1624\text{cm}^{-1}$ .	206

## INTRODUCTION

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques, ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » appartenant à des groupes chimiques variés (alcaloïdes, terpènes, composés phénoliques) qui sont très inégalement répartis chez les végétaux mais dont le niveau d'accumulation peut quelquefois atteindre des valeurs élevées.

Les composés phénoliques sont devenus de plus en plus importants et ont fait l'objet de plusieurs études d'aspects chimique, biologique etc. et ce, en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé en tant qu'antioxydants naturels comme rôle principale.

Les phénols sont présents dans toutes les parties des plantes notamment les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, le pollen, les fruits, les graines et le bois. Ils comprennent, entre autres, les phénols simples et les acides phénoliques, les dérivés d'acides hydroxycinnamiques et hydroxybenzoïques, les flavonoïdes, les coumarines, le stilbène, les lignanes, les lignines, les tanins condensés. Les dérivés substitués des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques sont les acides phénoliques les plus prédominants dans les plantes, les acides hydroxycinnamiques étant les plus courants.

De nombreux travaux ont été menés pour optimiser le procédé d'extraction de ces composés, en particulier le choix des solvants pour améliorer les rendements d'extraction de cette classe à partir de substances naturelles en corrélation avec leurs propriétés chimiques et structurelles [156—221].

Plusieurs techniques analytiques chromatographiques ont été proposées pour la quantification des acides phénoliques, y compris la chromatographie sur couche mince, la chromatographie gaz-liquide, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse et les méthodes d'électrophorèse capillaire. Cependant, la chromatographie liquide haute performance et l'Ultra-HPLC sont aujourd'hui les méthodes de choix de quantification les plus largement utilisées [249—312].

La méthode de référence utilisée pour le dosage des phénols totaux est la méthode Folin-Ciocalteu basée sur la couleur produite lors de l'oxydation des phénols, dans un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La bande entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux et la teneur

en polyphénols totaux est établie par comparaison avec le signal d'absorbance obtenu pour un étalonnage externe utilisant l'acide gallique, en général, comme étalon.

Le test Folin-Ciocalteu est simple à utiliser et très sensible. Cependant, il n'est pas spécifique des polyphénols, étant interférés par les acides aminés tyrosines et tryptophane, les protéines, les sucres réducteurs, comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites. De plus, le standard considéré ne représente pas la classe entière des phénols étant donc une méthode semi-quantitative appliquée juste à des fins de comparaison [222—248].

Les méthodes de spectroscopie dans la zone du moyen-infrarouge (FT-MIR et ATR-FT-MIR) ont été utilisées, notamment, pour caractériser les composés phénoliques. Par ailleurs, concernant la quantification des polyphénols totaux par les méthodes FT-NIR et FT-NIR-PLS appliquées aux méthodes chimiométriques, de nombreux travaux ont été réalisés en exploitant leurs avantages liés principalement à leurs rapidité, leurs côté économique et leurs accessibilité en laboratoire [313—326].

Vu la croissance des besoins des chercheurs pour la quantification des phénols dans les substances naturelles, afin de renforcer l'identification des plantes, distinguer et valoriser les différentes espèces, le développement de nouvelles méthodes rapides, disponibles et spécifique est toujours nécessaire.

Dans le cadre de cette thèse, nous avons fixé comme objectif le développement et la validation d'une nouvelle méthode d'étalonnage PLS-IRTF (en mode transmission et/ou ATR) pour la quantification des acides phénolique dans les extraits de plantes médicinales et aromatiques, contribuant ainsi au large domaine des produits naturels et offrant un outil complémentaire aux chercheurs travaillants dans ce domaine.

Le manuscrit est réparti en trois chapitres :

Le premier chapitre a été consacré à une étude bibliographique dans laquelle nous avons traité les bases théoriques sur les plantes aromatiques et médicinales, les composantes chimiques principales des plantes et sur les composés phénoliques.

La synthèse des travaux de recherche antérieurs a été concrétisée par le regroupement, dans un large éventail, des noms communs et selon la nomenclature de l'IUPAC des composés phénoliques synthétiques et naturels de différentes classes. Nous

avons aussi inventorié les acides phénoliques des différentes classes ainsi que leurs intérêts biologiques.

Nous nous sommes également intéressées aux principes de l'analyse qualitative et quantitative et la calibration monovariée et multivariée (PLS-R) par spectroscopie IRTF ainsi que les paramètres analytique d'optimisation et de validation d'un modèle de calibration. De plus, nous avons passé en revue les teneurs des acides phénoliques dans les plantes et végétaux cités par les différents travaux effectués sur les acides phénoliques.

Le deuxième chapitre porte sur le développement d'une méthode de quantification des acides phénoliques dans les extraits de plantes médicinales par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier en considérant la calibration monovariées et multivariées.

La construction des modèles de calibration multivariés PLS-IRTF a été basée sur **deux stratégies de calibration**. La première consiste à réaliser une matrice de calibration de mélanges de trois composés appartenant à la même classe d'acides hydroxybenzoïques, et la deuxième en considérant des mélanges de composés appartenant à différentes classes d'acides phénoliques à savoir ; les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques ainsi que les phénols simple et mono-terpénique.

Les modèles de calibration optimisés ont été appliqués pour la prédiction des teneurs des acides phénoliques majoritaires (l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide salicylique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide gallique, l'eugénol et le thymol) chez les espèces de thym (*Thymus vulgaris*), d'origan (*Origanum vulgare*), de romarin (*Salvia Rosmarinus*), de cannelles (*Cinnamomum cassia*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), par la calibration multivariable de la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) en mode transmission et ATR.

Après la maîtrise de la méthode de quantification individuelle des acides phénoliques dans les extraits par PLS-ATR-IRTF, traité dans l'étude du chapitre précédent, nous avons abordé, dans le troisième chapitre, la quantification des acides phénoliques spécifiques et la **déduction des acides phénoliques totaux** contenus dans dix-huit extraits de plantes aromatiques à savoir ; le thym (*Thymus vulgaris*. L.), l'origan (*Origanum vulgare*), le romarin (*Rosmarinus officinalis prostrates*), le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), la cannelle (*Cinnamomum cassia*), l'anis étoilé (*Illicium verum*), l'anis verte (*Pimpinella anisum*), la coriandre (*Coriandrum sativum*), le basilic (*Ocimum basilicum* L.), le cumin

(*Cuminum cyminum*), l'écorce de grenade (*Punica granatum*), le marc de café (*Coffea arabica*), la marjolaine (*Origanum majorana*), les pépins de raisins (*Vitis vinifera* var. *sativa*), le piment rouge (*Capsicum annuum*), le poivre noir (*Piper nigrum*), la sauge (*Salvia officinalis*) et le thé vert (*Camellia sinensis*), par PLS-ATR-IRTF.

Concernant la quantification des acides phénoliques totaux, deux points ont été considérés, à savoir :

1- Introduire dans la matrice d'étalonnage d'une colonne d'acides phénoliques totaux où la concentration en acides phénoliques totaux est calculée comme étant la somme des concentrations d'acides phénoliques présentes dans les mélanges.

2- Sélectionner une zone spectrale commune à tous les acides phénoliques considérés dans cette étude sans qu'elle soit exploitée pour la quantification spécifique.

Nous avons finalisé cette thèse par une conclusion générale soulignant les résultats les plus importants et comme continuité à ce travail des perspectives liées à ce travail.

# CHAPITRE 1

## PARTIE THEORIQUE

### 1.1 Plantes médicinales et aromatiques

#### 1.1.1 Plantes médicinales

Les plantes sont considérées comme l'une des plus importantes sources de médicaments. Parmi les 250 000 espèces végétales supérieures signalées dans le monde, plus de 80000 espèces sont utilisées comme médicinales. Les plantes médicinales sont largement utilisées dans le monde et ne sont pas seulement une base de ressources majeure pour la médecine traditionnelle et de phytothérapie mais aussi afin de fournir des moyens de subsistance et de sécurité sanitaire à un grand segment de la population mondiale [1].

La plante dans sa totalité est rarement utilisée, il s'agit généralement d'une ou plusieurs parties d'une plante, chaque partie a une action et des usages différents : rhizome (gingembre), bulbe (soie), racine (angélique), partie aérienne (ortie), tige (prêle), écorce (cannelle), bourgeon (pin), feuille (sauge), sommité fleurie (salicaire), fleur (violette), pétale (pavot), fruit (fenouil), graine (lin), tégument (ispaghul), plante (Arabie Gomme, myrrhe), exsudat d'algues (varech).

Les plantes aux propriétés médicinales peuvent également être utilisées dans les aliments ou les condiments, et même dans la préparation de boissons gazeuses non-alcoolisées. Depuis l'antiquité, la théorie des signatures systématisée au XVIe siècle a joué un rôle important dans la distinction des plantes nécessaires à la réhabilitation humaine par analogie. Elle a depuis été largement débattue au XVIIe siècle et complètement abandonnée du monde savant au Siècle des Lumières [2].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (l'OMS), 14 à 28% des plantes du monde sont classées comme médicinales [3]. Des enquêtes menées au début du XXIe siècle ont montré que 3% à 5% des patients dans les pays occidentaux, 80% des populations rurales des pays en développement et 85% des populations subsahariennes utilisent les plantes médicinales comme traitement principal [4].

### 1.1.2 Plantes aromatiques

Les plantes aromatiques, également connues sous le nom d'herbes et d'épices, sont utilisées au Moyen-Orient depuis environ 5000 ans avant JC pour leurs propriétés conservatrices et médicinales, en plus d'améliorer l'arôme et la saveur des aliments [5–7]. Leur utilisation n'a pas diminué aujourd'hui et, selon l'OMS, près de 80% de la population de la planète, en particulier dans les pays en développement, dépend toujours des médicaments produits par les plantes pour leurs soins de santé [8,9]. En outre, des additifs alimentaires dérivés de plantes, également appelés phytogéniques ou phytobiotiques ou botaniques, peuvent être inclus dans l'alimentation des animaux pour améliorer leur productivité et les propriétés des aliments pour animaux et des produits animaux qui en résultent [10].

Parmi ces additifs naturels, les plantes aromatiques, leurs extraits et leurs huiles essentielles ont été examinés en raison de leurs avantages par rapport aux antibiotiques comme promoteurs de croissance. Ils sont exempts de résidus et généralement reconnus comme sûrs [10–12].

Actuellement, il existe un intérêt croissant pour l'utilisation d'herbes et d'épices dans l'alimentation animale, afin de remplacer l'utilisation d'antibiotiques et d'anticoccidiens ionophores, en particulier après l'interdiction des additifs alimentaires antibiotiques dans les pays de l'Union européenne en 2006 et des discussions pour restreindre leur utilisation en dehors de l'Europe [13,14].

De nombreuses herbes et épices peuvent être trouvées dans le monde entier, dont beaucoup proviennent de la région méditerranéenne, à l'état sauvage ou cultivées, comme le romarin, l'origan, la sauge, le thym, la menthe poivrée et l'ail [15–18]. Ils contiennent des substances chimiques telles que des polyphénols, des quinine, des flavonols / flavonoïdes, des alcaloïdes, des polypeptides ou leurs dérivés à substitution oxygénée [19–21]. Certaines de ces substances peuvent agir en synergie, de sorte que leur bioactivité est améliorée [22]. Certains composés bioactifs présentent une valeur thérapeutique, comme les activités antioxydantes et antiseptiques [6,23]. Ainsi, ils peuvent réduire le risque de cancer ou de maladies cardiovasculaires [24, 25] et peuvent trouver des applications comme traitements pour guérir ou gérer un large éventail de maladies telles que les maladies respiratoires et les troubles gastriques ou inflammatoires [18]. En général, les composants bioactifs des plantes aromatiques possèdent la capacité de protéger le corps

des dommages causés par le stress oxydatif induit par les radicaux libres en neutralisant l'oxygène singulet et en induisant l'activité des cytochromes ou d'autres enzymes [6, 26]. De plus, les herbes et les épices peuvent inhiber le rancissement oxydatif et retarder le développement d'un mauvais goût dans certains produits [27, 28]. Ils contiennent également des composés antimicrobiens qui contribuent au retard de la croissance microbienne sur les aliments et en particulier les grignotines et les produits carnés [6, 29, 30].

## 1.2 Composantes chimiques principales des plantes

Le métabolisme est défini comme la somme de toutes les réactions biochimiques effectuées par un organisme. Les plantes produisent un assortiment vaste et diversifié de composés organiques. Il existe les voies métaboliques primaires qui convergent trop peu de produits finaux et jouent des rôles métaboliques essentiels à la croissance et au développement de la plante et les voies métaboliques secondaires qui divergent trop de produits et jouent un rôle majeur dans l'adaptation des plantes à leur environnement.

Les métabolites primaires tels que les phytostérols, les lipides, les nucléotides, les acides aminés et les acides organiques, se trouvent dans toutes les plantes. Les métabolites secondaires, en revanche, sont souvent distribués de manière différentielle parmi des groupes taxonomiques limités au sein du règne végétal [31, 32].

Bien que noté pour la complexité de leurs structures chimiques et de leurs voies de biosynthèse, les produits naturels ont été largement perçus comme biologiquement insignifiants et ont historiquement reçu peu d'attention de la plupart des biologistes des plantes. Cependant, les chimistes spécialistes en chimie organique pharmaceutique s'intéressent depuis longtemps à ces nouveaux composés phytochimiques et ont étudié leurs propriétés chimiques de manière approfondie depuis les années 1850. Les études de produits naturels ont stimulé le développement des techniques de séparation, des approches spectroscopiques pour l'élucidation de la structure et des méthodologies de synthèse qui constituent désormais le fondement de la chimie organique contemporaine.

L'intérêt pour les produits naturels n'était pas purement académique mais était plutôt motivé par leur grande utilité en tant que colorants, polymères, fibres, colles, huiles, cires, agents aromatisants, parfums et médicaments. La reconnaissance des propriétés

biologiques d'une myriade de produits naturels a alimenté le centre d'intérêt actuel de ce domaine, à savoir la recherche de nouveaux médicaments, antibiotiques, insecticides et herbicides. Basé sur leurs origines biosynthétiques, les produits naturels végétaux peuvent être divisés en trois grands groupes: les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Tous les terpénoïdes, y compris les métabolites primaires et plus de 25 000 composés secondaires, sont dérivés du précurseur de cinq carbones isopentényl diphosphate (IPP). Les quelques 12 000 alcaloïdes connus, qui contiennent un ou plusieurs atomes d'azote, sont biosynthésés principalement à partir d'acides aminés. Les quelques 8000 composés phénoliques sont formés soit par la voie de l'acide shikimique, soit par la voie malonate / acétate [33].

### 1.2.1 Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont souvent employés comme excipients dans la fabrication des formes médicamenteuses : oses édulcorants, polysaccharides (natifs ou modifiés) utilisés pour la préparation de comprimés, huiles nécessaires à l'obtention d'émulsions et autres formes. Ces mêmes métabolites primaires confèrent aussi d'intéressantes propriétés thérapeutiques à certaines plantes : amélioration du transit intestinal par la gomme de Sterculia, les galactanes sulfatés du thalle de la mousse d'Irlande (Chondrus), le mucilage de la graine de Plantain des Indes (ispaghul) ou celui de la graine du lin ; effet adoucissant des affections dermatologiques de plantes à mucilages telles que la mauve ou la guimauve ; amélioration controversée de l'eczéma atopique par l'huile d'onagre ; pour ne citer que quelques exemples.

### 1.2.2 Métabolites secondaires

La plupart des métabolites secondaires d'intérêt entrent dans des catégories qui les classent en fonction de leur origine biosynthétique. Les métabolites secondaires sont des produits chimiques produits principalement par les plantes pour lesquels aucun rôle n'a encore été trouvé dans la photosynthèse, la croissance ou la reproduction. Les métabolites secondaires sont divers; plusieurs milliers estimés à plus de 300 000 ont été identifiés dans plusieurs grandes classes [34]. Chaque famille, genre et espèce végétale produit un mélange caractéristique de ces métabolites secondaires. Ces produits chimiques sont également utilisés comme caractères taxonomiques dans la classification des plantes [35].

Les métabolites secondaires peuvent être classés en fonction de leur structure chimique (par exemple, cyclique et acyclique, contenant un fragment sucre), de leur composition (présence ou absence d'éléments, par exemple de l'azote) et de leur solubilité aqueuse, ou en fonction de la voie par laquelle ils sont synthétisés (par exemple, phénylpropanoïde, qui produit des tanins). Une classification simple comprend trois groupes principaux: les terpènes (fabriqués à partir d'acide mévalonique, composé presque entièrement de carbone et d'hydrogène), les composés phénoliques (fabriqués à partir de sucres simples, contenant des cycles benzéniques, de l'oxygène et de l'hydrogène) et des composés contenant de l'azote (extrêmement divers). Cependant, il n'y a pas de système strict de classification des produits naturels: leur extrême diversité de structure, de fonction et de biosynthèse leur permet de s'intégrer parfaitement dans quelques catégories simples [36-40]. On distingue classiquement trois grandes catégories de métabolites secondaires chez les végétaux : les composés phénoliques, les alcaloïdes [36-40] et les composés terpéniques [41-49]. Les produits naturels sont d'une grande importance en médecine. Les métabolites secondaires sont largement utilisés dans les formulations pharmaceutiques pour les loisirs et la stimulation (les alcaloïdes comme la nicotine et la cocaïne). L'étude d'une telle utilisation des plantes est appelée «ethnopharmacologie».

### 1.3 Composés phénoliques

#### 1.3.1 Distribution et biosynthèses des composés phénoliques dans le règne végétal

Les composés phénoliques sont les métabolites secondaires les plus largement distribués, présents de manière ubiquitaire dans le règne végétal, même si le type de composé présent varie selon le phylum considéré. Les composés phénoliques sont rares dans les bactéries, les champignons et les algues. Les bryophytes sont des producteurs réguliers de polyphénols dont les flavonoïdes, mais c'est dans les plantes vasculaires que se trouve toute la gamme des polyphénols [50-52]. On estime qu'environ 2% de tout le carbone photosynthétisé par les plantes est converti en flavonoïdes ou en composés étroitement apparentés [53]. Les plantes supérieures synthétisent plusieurs milliers de composés phénoliques différents connus, et le nombre de ceux entièrement caractérisés augmente continuellement. Les feuilles des plantes vasculaires contiennent des esters; des amides et glycosides des acides hydroxycinnamiques ; les flavonoïdes glycosylés, en

particulier des flavonols; et les proanthocyanidines et leurs dérivés. La lignine, la subérine et la sporopollénine de pollen sont des exemples de polymères contenant du phénol.

Certains composés phénoliques d'un poids moléculaire élevé sont largement distribués dans le règne végétal, par exemple l'acide chlorogénique, mais la distribution de nombreuses autres structures est limitée à des genres ou familles spécifiques, ce qui en fait des biomarqueurs pratiques pour les études taxonomiques [53].

La capacité de synthétiser des composés phénoliques a été choisie tout au long de l'évolution dans différentes lignées végétales lorsque ces composés répondaient à des besoins spécifiques, permettant ainsi aux plantes de faire face aux défis environnementaux en constante évolution au cours du temps de l'évolution [54–57]. Par exemple, l'adaptation réussie à la terre de certains membres supérieurs des Charophycées - qui sont considérés comme des prototypes de plantes amphibies qui ont vraisemblablement précédé de véritables plantes terrestres lorsqu'elles ont émergé d'un environnement aquatique sur la terre - a été en grande partie obtenue par la formation massive de «composés phénoliques Ecrans UV» c'est-à-dire efficaces comme «écran solaire» [50, 51, 58, 59]. La voie phénylpropanoïde menant aux lignines implique un ensemble commun de réactions biochimiques chez les plantes vasculaires déjà présentes il y a 400 millions d'années avec l'émergence de plantes vasculaires terrestres dressées. D'un point de vue évolutif, ces squelettes métaboliques se sont progressivement enrichis pour apporter des adaptations spécifiques aux différentes familles végétales et à la remarquable diversité biochimique que nous pouvons observer [57]. Représentant environ 40% du carbone organique circulant dans la biosphère, ces composés phénoliques sont formés biosynthétiquement soit par la voie de l'acide shikimique, soit par la voie du malonate / acétate, également connue sous le nom de voie des polycétides, et des voies biochimiques associées. De plus, c'est leur réassimilation en dioxyde de carbone lors de la biodégradation (minéralisation) qui présente l'étape limitante du recyclage du carbone biologique [60, 61].

Les composés phénoliques des végétaux sont, en eux-mêmes, un groupe fascinant de substances et ont attiré certains des chimistes organiciens les plus distingués, lauréats du prix Nobel, dont Emil Fischer, qui a étudié les substances chimiques utilisées dans le tannage; Richard M. Willstätter, qui en 1913 a proposé la première hypothèse chimique concernant le développement de la couleur des fleurs bleues; Robert Robinson (Copolymérisation de 50 composés phénoliques); Richard L.M. Synge (intéressé par les

interactions des tanins avec les protéines); et Alexander R. Todd qui a travaillé de 1931 à 1934 sur les anthocyanes et autres coloration des matières avec Sir Robert Robinson [62–64].

De manière générale, en ce qui concerne la définition des composés phénoliques des végétaux, le terme «phénol» est un terme chimique qui définit un cycle phényle portant un ou plusieurs substituants hydroxyle. Le terme « polyphénol » pourrait ainsi être utilisé pour définir des produits naturels comportant au moins deux cycles phényle portant un ou plusieurs substituants hydroxyle, y compris leurs dérivés fonctionnels (par exemple, esters et glycosides), mais dans le contexte des substances phénoliques des végétaux, une telle définition n'est pas satisfaisante car il comprendrait des composés tels que le gossypol, le caroténoïde phénolique 3-hydroxyisoréniératène ou l'hormone sexuelle féminine phénolique estrone, qui sont principalement d'origine terpénoïde [65].

Ainsi, en règle générale récemment proposée par Quideau et al. [66], les termes «Plantes phénoliques» devraient être strictement utilisés pour désigner les métabolites naturels secondaires issus de la biogénétique soit de la voie shikimate / phénylpropanoïde, qui fournit directement des phénylpropanoïdes, soit de la voie acétate / malonate « polykétide », et qui remplissent un très large éventail de rôles physiologiques chez les plantes [65, 66]. En fait, bien que la majeure partie de ces composés jouent des rôles structurels de la paroi cellulaire, les tissus des végétaux synthétisent une vaste gamme de constituants non structuraux qui jouent divers rôles dans la croissance et la survie des plantes. Ainsi, l'expression «Plantes phénoliques» englobe un groupe très diversifié, dont les membres chimiquement connus peuvent être comptés en plusieurs milliers avec une large gamme de structures identifiées: des composés phénoliques monomériques, dimériques et polymériques ont été identifiés. Plusieurs classes de composés phénoliques ont été catégorisées en fonction de leur squelette basique:  $C_6$  (phénol simple, benzoquinones),  $C_6-C_1$  (acide phénolique),  $C_6-C_2$  (acétophénone, acide phénylacétique),  $C_6-C_3$  (acide hydroxycinnamique, coumarine, phénylpropanes, chromones),  $C_6-C_4$  (naphtoquinones),  $C_6-C_1-C_6$  (xanthonnes),  $C_6-C_2-C_6$  (stilbènes, anthraquinones),  $C_6-C_3-C_6$  (flavonoïdes, isoflavonoïdes, néoflavonoïdes),  $(C_6-C_3-C_6)_{2,3}$  (bi-, triflavonoïdes),  $(C_6-C_3)_2$  (lignanes, néolignanes),  $(C_6-C_3)_n$  (lignines),  $(C_6)_n$  (catéchol mélanines) et  $(C_6-C_3-C_6)_n$  (tanins condensés). Les composés phénoliques de faible poids moléculaire sont universellement présents dans les plantes supérieures; Certains d'entre eux sont commune dans une variété d'espèces végétales et d'autres sont spécifiques à l'espèce. Les

proanthocyanidines de poids moléculaire plus élevé (également appelés tanins condensés) sont les polyphénols les plus abondants dans les plantes ligneuses, mais sont généralement absentes dans les plantes herbacées.

Les tanins hydrolysables ont une occurrence plus restreinte que les proanthocyanidines, étant trouvés dans seulement 15 des 40 ordres de dicotylédones [52, 67–77].

### 1.3.2 Intérêts des composés phénoliques

Ces dernières années, les fruits et légumes reçoivent un intérêt en fonction du type, du nombre et du mode d'action des différents composants, dits «phytochimiques», pour leur rôle présumé dans la prévention de diverses maladies chroniques dont les cancers et les maladies cardiovasculaires. Les plantes sont de riches sources de micronutriments alimentaires fonctionnels, de fibres et de composés phytochimiques, tels que l'acide ascorbique, les caroténoïdes et les composés phénoliques, qui, individuellement ou en combinaison, peuvent être bénéfiques pour la santé puisqu'elles démontrent une activité antioxydante in vitro [78–85].

En plus d'être responsable de la couleur (comme le jaune, pigments orange, rouge et bleu), goût et saveur (comme la vanilline et l'eugénol) des aliments, l'une des principales caractéristiques des polyphénols est la capacité de piégeage des radicaux, qui est impliquée dans les propriétés antioxydantes, et la capacité d'interagir avec les protéines. La haute capacité antioxydante fait des polyphénols un facteur clé important qui est impliqué dans la défense chimique des plantes contre les agents pathogènes et les prédateurs et dans les interférences plante-plante [86].

### 1.3.3 Classification des composés antioxydants phénoliques

Les antioxydants phénoliques peuvent être classés comme synthétiques et naturels [76] comme l'illustre le tableau 1.1, en fonction de leur origine.

#### 1.3.3.1 Antioxydants phénoliques naturels

##### 1.3.3.1.1 Acides phénoliques

Les acides phénoliques se composent de deux sous-groupes: les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique. Les principales sources d'acides phénoliques sont la myrtille, la canneberge, la poire, la cerise (sucrée), la pomme, l'orange, le

pamplemousse, le jus de cerise, le jus de pomme, le citron, la pêche, la pomme de terre, la laitue, les épinards, les grains de café, le thé, le café et le cidre. Les acides hydroxycinnamiques constituent une classe majeure parmi les composés phénoliques [87, 88].

#### 1.3.3.1.2 Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont les polyphénols les plus abondants dans l'alimentation humaine, représentant plus de la moitié des huit mille composés phénoliques naturels que l'on trouve principalement dans les mûres, le cassis, les myrtilles, le raisin, les fraises, les cerises, les prunes, la canneberge, la grenade et la framboise. Ce sont des composés de bas poids moléculaire, composés de quinze atomes de carbone; portent la structure  $C_6-C_3-C_6$ . Ils sont principalement divisés en deux classes: les anthocyanes (dérivé glycosylé d'anthocyanidine, présent dans les fleurs et fruits colorés); et les anthoxanthines (un groupe de composés incolores divisé en plusieurs catégories, comprenant les flavones, les flavanes, les flavonols, les isoflavones et leurs glycosides) [87, 89–91].

#### 1.3.3.1.3 Tanins

Les tanins, les composés de poids moléculaire relativement élevé trouvés dans les complexes avec des alcaloïdes, des polysaccharides et des protéines, sont un groupe de polyphénols hydrosolubles. Ils peuvent être subdivisés en tanins hydrolysables et condensés. Les tanins hydrolysables sont des esters d'acide gallique (gallo- et ellagitanins), tandis que les tanins condensés (également appelés proanthocyanidines) sont des polymères de monomères polyhydroxyflavan-3-ol. Une troisième subdivision, les phlorotanins constitués entièrement de phloroglucinol, a été isolée de plusieurs genres d'algues brunes. On les trouve dans les pépins / peau de raisin (foncé / clair), jus de pomme, fraises, framboises, grenade, noix, raisin muscadine, pêche, mûre, olive, prune, pois chiche, pois aux yeux noirs, lentilles, haricot rouge / le vin blanc, le cacao, le chocolat, le thé, le cidre, le café, les fruits immatures sont les principales sources de tanins [87, 92].

#### 1.3.3.1.4 Stilbènes

Les stilbènes sont structurellement caractérisés par la présence d'un noyau 1,2-diphényléthylène avec des groupes hydroxyle substitués sur les cycles aromatiques. Ils existent sous forme de monomères ou d'oligomères. Le composé le plus connu est le trans-

resvératrol, possédant un trihydroxystilbène skeleton [93]. Les principales sources alimentaires de stilbènes sont les raisins, le vin, le soja, les arachides et les produits à base d'arachides [94].

### 1.3.3.2 Antioxydants phénoliques synthétiques

Afin d'avoir un système standard de mesure de l'activité antioxydante à comparer avec les antioxydants naturels et à incorporer dans les aliments, des antioxydants synthétiques ont été développés. Ces composés purs sont ajoutés aux aliments afin qu'ils puissent résister à divers traitements et conditions ainsi que pour prolonger la durée de conservation. Le BHT (butylhydroxytoluène) et le BHA (butylhydroxyanisole) sont les antioxydants chimiques les plus largement utilisés. L'Autorité européenne de sécurité des aliments (l'EFSA) a établi des doses journalières acceptables (DJA) révisées de 0,25 mg / kg pc / jour pour le BHT et de 1,0 mg / kg pc / jour pour le BHA et a noté que l'exposition des adultes âgés et des enfants ne dépasserait probablement pas ces apports [95, 96]. La TBHQ (tert-butylhydroquinone) stabilise et préserve la fraîcheur, la valeur nutritive, la saveur et la couleur des produits alimentaires d'origine animale. En 2004, l'EFSA a publié un communiqué scientifique examinant l'impact de cet antioxydant sur la santé humaine et a déclaré qu'il n'y avait aucune preuve scientifique de sa cancérogénicité malgré des données antérieures contradictoires. Ils ont souligné que les chiens étaient les espèces les plus sensibles et ont attribué une DJA de 0 à 0,7 mg / kg pc / jour [97, 98]. Le gallate d'octyle est considéré comme sûr à utiliser comme additif alimentaire car, après consommation, il est hydrolysé en acide gallique et octanol, qui se trouvent dans de nombreuses plantes et ne constituent pas une menace pour la santé humaine [98]. Le NDGA (acide nordihydroguaiarétique), bien qu'il soit un antioxydant alimentaire, est connu pour provoquer une maladie kystique rénale chez les rongeurs [99].

## 1.3.4 Les acides phénoliques

### 1.3.4.1 Classification des acides phénoliques

Les acides phénoliques, connus pour servir de composés bioactifs polyvalents, se composent en deux sous-groupe ; les hydroxybenzoïques et les hydroxycinnamiques comme illustré dans les tableaux 1.1 et 1.2. Les acides hydroxybenzoïques comprennent l'acide gallique, *p*-hydroxybenzoïque, protocatéchique, vanillique et syringique, qui ont en commun la structure C<sub>6</sub>-C<sub>1</sub>. Les acides hydroxycinnamiques, par contre, sont des

composés aromatiques à chaîne latérale à trois carbones (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>), dont les acides caféique, férulique, p-coumarique et sinapique étant les plus courants dans les plantes [76, 100].

Ces dérivés se distinguent par le schéma d'hydroxylation et de méthylation de leurs cycles aromatiques [101, 102].

Tableau 1.1 : Classification des antioxydants phénoliques.

Classes	Nom commun/IUPAC
Phénols Simples	Hydroquinone, Eldoquin ou Chinol (benzène-1,4-diol)
	Catéchol, pyrocatéchol ou 1,2-dihydroxybenzène (Benzene-1,2-diol)
	Orcinol (3,5-dihydroxytoluène, 5-Methylbenzene-1,3-diol)
	Thymol (5-méthyl-2-(propan-2-yl)-phénol)
	Resorcinol (Benzene-1,3-diol)
	Phloroglucinol (benzène-1,3,5-triol)
	Pyrogallol (Acide pyrogallique, 1,2,3-trihydroxybenzène)
	Phenanthrol (phenanthren-1-ol)
	Anthrol (anthracen-1-ol)
	Naphtol : napht-1-ol ou $\alpha$ -naphtol/ napht-2-ol ou $\beta$ -naphtol
	Phénol (hydroxybenzène, acide phénique, ou encore acide carbolique)
	Crésol ( <i>o</i> -crésol, <i>m</i> -crésol, <i>p</i> -crésol) (2-méthylphénol, 3-méthylphénol, 4-méthylphénol)
	Carvacrol ou Cymophénol (2-méthyl-5-(propan-2-yl)phénol)
Benzoquinones	Benzoquinone (2,6-Diméthoxybenzoquinone)
	<i>o</i> -Benzoquinone (1,2-Benzoquinone)
	<i>p</i> -Benzoquinone (1,4-Benzoquinone)
	Ubiquinone
	Blattellaquinone
Naphthoquinones	<b>Produits Naturels :</b>
	Alkannin (5,8-Dihydroxy-2-[(1S)-1-hydroxy-4-méthylpent-3-en-1-yl]naphthalene-1,4-dione)
	Hexahydroxy-1,4-naphthalenedione (Hexahydroxy-1,4-naphthalenedione)
	Juglone (5-Hydroxy-1,4-naphthalenedione)
	Lapachol (2-Hydroxy-3-(3-méthylbut-2-enyl)naphthalene-1,4-dione)
	Lawsone (2-Hydroxy-1,4-naphthoquinone)

	Menatetrenone ou Vitamine K <sub>2</sub> (3-methyl-2-[(2Z,6E,10E)-3,7,11,15-tetramethylhexadeca-2,6,10,14-tetraenyl]naphthalene-1,4-dione)
	2-Methoxy-1,4-naphthoquinone (2-methoxynaphthalene-1,4-dione)
	Nigrosporin B ((6R,7S)-6,7,10-Trihydroxy-2-methoxy-7-methyl-6,8-dihydro-5H-anthracene-1,4-dione)
	Spinochrome D (6-Éthyl-2,3,5,7,8-pentahydroxy-1,4-naphthoquinone)
	Spinochrome B (1,4,5,7-tetrahydroxynaphthalene-2,3-dione)
	Spinochrome E (Hexahydroxy-1,4-naphthalenedione, Hexahydroxy-1,4-dihydronaphthalene-1,4-dione)
	Phylloquinone ou Phytomenadione, aussi connu sous le nom de Vitamine K <sub>1</sub> (2-methyl-3-(3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl)naphthalene-1,4-dion)
	Plumbagin (5-hydroxy-2-methyl-naphthalene-1,4-dione)
	<b>Produits Synthétique :</b>
	Menadione (2-Methylnaphthalene-1,4-dione)
	Naphthazarin (5,8-dihydroxynaphthalene-1,4-dione)
	Dihydroxynaphthoquinones
	Atovaquone (trans-2-[4-(4-chlorophenyl)cyclohexyl]-3-hydroxy-1,4-naphthalenedione)
	Buparvaquone (Bupanaquone, Butalex) (3-[(4-tert-butylcyclohexyl)methyl]-4-hydroxynaphthalene-1,2-dione)
Anthraquinones	Hypericin (1,3,4,6,8,13-hexahydroxy-10,11-dimethylphenanthro[1,10,9,8-opqra]perylene-7,14-dione)
	Fagopyrin (1,3,4,6,8,13-Hexahydroxy-10,11-dimethyl-2,5-di(piperidin-2-yl)fenantro[1,10,9,8-opqra]peryleen-7,14-dione)
	Aloe-Emodin (1,8-dihydroxy-3-(hydroxymethyl)anthracene-9,10-dione)
	1,2-anthraquinone, 1,4-anthraquinone, et 2,6-anthraquinone
Dihydroxyanthraquinones	Alizarin (1,2-Dihydroxyanthracene-9,10-dione)
	Purpuroxanthin ou Xantopurpurin (1,3-dihydroxyanthracene-9,10-dione)

	1,4-Dihydroxyanthraquinone (quinizarin) (1,4-dihydroxyanthracene-9,10-dione)
	1,5-Dihydroxyanthraquinone (anthrarufin)
	1,8-Dihydroxyanthraquinone (dantron, chrysazin)
	2,6-Dihydroxyanthraquinone (anthraflavic acid)
Acides Phénoliques	<b>Acides Hydroxycinnamiques (hydroxycinnamates) :</b>
	Acide $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamique ((E)-2-cyano-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoate)
	Acide Caffeique (acide 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-propenoïque ; Acide 3,4-Dihydroxy-cinnamique ; Acide trans-Caffeate 3,4-Dihydroxy-trans-cinnamate (E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-propenoïque ; Acide 3,4-Dihydroxybenzeneacrylique ; Acide 3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-propenoïque)
	Acide Cichorique (Acide (2R,3R)-2,3-bis{[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy}butanedioïque)
	Acide Cinnamique (Acide (2E)-3-Phénylprop-2-ènoïque)
	Acide Chlorogénique (Acide (1S,3R,4R,5R)-3-{[(2E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy}-1,4,5-trihydroxycyclohexanecarboxylique)
	Acide Diferulique (Acide (E)-3-[3-[5-[(E)-2-carboxyethenyl]-2-hydroxy-3-methoxyphenyl]-4-hydroxy-5-methoxyphenyl]prop-2-ènoïque)
	Acide Coumarique : Acide <i>o</i> -Coumarique (Acide (E)-3-(2-hydroxyphenyl)prop-2-ènoïque), Acide <i>m</i> -Coumarique (Acide 3-(3-hydroxyphenyl)propanoïque), Acide <i>p</i> -Coumarique (Acide (E)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propenoïque)
	Coumarine (2H-chromen-2-one)
	Acide Ferulique (Acide 3-méthoxy-4-hydroxycinnamique)
	Acide Sinapinique (Acide 3,5-diméthoxy-4-hydroxycinnamique ou Acide sinapinique)
	<b>Acides Hydroxycinnamoyltartariques :</b>
	Acide Cafartrique (Acide (2R,3R)-2-[(E)-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy-3-hydroxybutanedioïque)
	Acide Coutarique (Acide (2R,3R)-2-Hydroxy-3-(((E)-3-(4-hydroxyphenyl)acryloyl)oxy)succinique)
	Acide Fertarique (Acide 2-hydroxy-3-{[(2E)-3-(4-hydroxy-3-méthoxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy}butandioïque)

	<b>Acides Hydroxybenzoïques :</b>
	Acide Salicylique, acide <i>o</i> -hydroxybenzoïque (Acide 2-Hydroxybenzoïque)
	Acide 3-Hydroxybenzoïque (Acide <i>m</i> -hydroxybenzoïque)
	Acide 4-Hydroxybenzoïque (Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque)
	Acide 2,3-Dihydroxybenzoïque (Acide 2-Pyrocatechique ou acide hypogallique)
	Acide 2,4-Dihydroxybenzoïque (Acide $\beta$ -Resorcylique)
	Acide 2,5-Dihydroxybenzoïque (Acide Gentisique)
	Acide 2,6-Dihydroxybenzoïque (Acide $\gamma$ -Resorcylique)
	Acide 3,4-Dihydroxybenzoïque (Acide Protocatechique)
	Acide 3,5-Dihydroxybenzoïque (Acide $\alpha$ -Resorcylique)
	Acide Orsellinique (Acide 2,4-dihydroxy-6-méthylbenzoïque)
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque (PHBA) (Acide 4-Hydroxybenzoïque)
	Acide Vanillique (Acide 4-Hydroxy-3-méthoxybenzoïque)
	Benzènehexol (hexahydroxybenzène)
	Acide Gallique (Acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque)
	Acide Phloroglucinol carboxylique (2,4,6-trihydroxybenzoïque)
	Acide Eudesmique (Acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque)
	Acide Syringique, acide <i>O</i> -méthylated trihydroxybenzoïque (acide 4-Hydroxy-3,5-diméthoxybenzoïque)
	Méthyle gallate (Méthyl-3,4,5-trihydroxybenzoate)
	Éthyle gallate (Ethyl 3,4,5-trihydroxybenzoate)
	Theogallin (Acide trihydroxybenzoïque glycoside) (Acide (1S,3R,4R,5R)-1,3,4-trihydroxy-5-(3,4,5-trihydroxybenzoyl)oxycyclohexane-1-carboxylique)
	Bergénin ((2R,3S,4S,4aR,10bS)-3,4,8,10-tetrahydroxy-2-(hydroxyméthyl)-9-méthoxy-3,4,4a,10b-tetrahydro-2H-pyrano[3,2-c]isochromén-6-one)
	Norbergénin ((2R,3S,4S,4aR,10bS)-3,4,8,9,10-Pentahydroxy-2-(hydroxyméthyl)-3,4,4a,10b-tetrahydro-2H-pyrano[3,2-c]isochromén-6-one)
	Acide Chebulique (Acide (2R)-2-[(3S)-3-carboxy-5,6,7-trihydroxy-1-oxo-3,4-dihydroisochromén-4-yl]butanedioïque)
Aldéhydes Phénoliques	Hydroxybenzaldehydes (Salicylaldehyde (2-hydroxybenzaldehyde), 3-Hydroxybenzaldehyde, 4-Hydroxybenzaldehyde)
	Protocatechique aldéhyde (3,4-dihydroxybenzaldehyde)
	Vanilline (4-Hydroxy-3-méthoxybenzaldehyde)

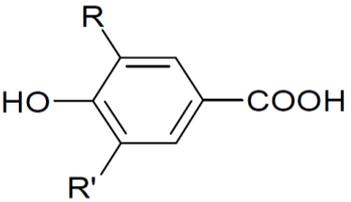
	Isovanilline (3-Hydroxy-4-methoxybenzaldéhyde)
	2,3,4-trihydroxy benzaldéhyde
Aldéhydes Cinnamiques	Cinnamaldéhyde ((2E)-3-phénylprop-2-ènal)
	$\alpha$ -Amyl- et $\alpha$ -hexylcinnamaldéhyde (2-Benzylideneoctanal)
	Dihydrocinnamaldéhyde
Phénols Ethers	Anéthol (trans-1-méthoxy-4-(prop-1-enyl) benzène, trans-anéthol, p-propénylanisole)
	Apiol (4,7-diméthoxy-5-(prop-2-én-1-yl)-1,3-benzodioxole)
	Khellin (4,9-diméthoxy-7-méthylfuro [3,2-g]chromèn-5-one)
	Visnagin (4-méthoxy-7-méthylfuro[3,2-g]chromèn-5-one)
	Guaiacol (2-méthoxyphénol, méthoxycatéchol)
	Anisole (méthoxybenzène)
Acétophénones, dérivés tyrosines, acides phénylacétiques	Acide $\alpha$ -toluique (Acide phénylacétique) Acide $\alpha$ -Phényl-o-toluique (acide 2-Benzylbenzoïque)
	Acide $\rho$ -hydroxyphénylacétique
	Acide homogentisique (acide (2,5-dihydroxyphényl) acétique)
	3-Acétyle-6-méthoxybenzaldéhyde
	Acide $\beta$ -phénylacétique
	Acide 2-phénylacétique
	Acide $\alpha$ -tolylique (p-Acide de vinaigre tolylique)
	Acide benzène acétique
	Tyrosol (4-(2-hydroxyéthyl) phénol)
	Acide 2-hydroxyphényl acétique
	Acide 2-hydroxyacétophénone (1-(2-hydroxyphényl)éthanone)
Phénylpropanoi- des	<b>Phénylpropènes :</b>
	1-phénylpropène (aussi appelé $\beta$ -méthylstyrène). Ses deux isomères sont le Z-1-phénylpropène (cis-1-phénylpropène ou Z- $\beta$ -méthylstyrène) et le E-1-phénylpropène (trans-1-phénylpropène ou E- $\beta$ -méthylstyrène) ; 2-phénylpropène ( $\alpha$ -méthylstyrène) ; 3-phénylpropène (allylbenzène).
	Eugénol (2-méthoxy-4-(2-propényl)-phénol)
	Chavicol (4-allylphénol)
	Safrole (5-(2-propényl)-1,3-benzodioxole)
	Estragol (1-allyl-4-méthoxybenzène)
	Myristicine (4-méthoxy-6-(prop-2-én-1-yl)-1,3-benzodioxole)

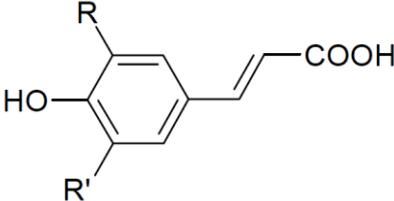
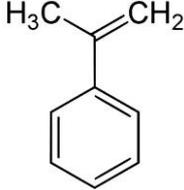
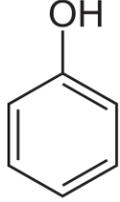
	<b>Monolignols :</b>
	Alcool coniférylique (alcool 4-hydroxy-3-méthoxycinnamylique)
	Alcool sinapylique (alcool 4-hydroxy-3,5-diméthoxycinnamylique)
	Alcool paracoumarylique (4-[(E)-3-hydroxyprop-1-ényl]phénol)
	<b>Lignans :</b>
	Pinorésinol (4-[(3S,3aR,6S,6aR)-6-(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-3-yl]-2-méthoxyphénol)
	Laricirésinol (4-[(2S,3R,4R)-4-[(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)méthyl]-3-(hydroxyméthyl)oxolan-2-yl]-2-méthoxyphénol)
	Secoisolaricirésinol ((2R,3R)-2,3-Bis[(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)méthyl]butane-1,4-diol)
	Matairésinol ((3R,4R)-3,4-bis[(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)méthyl]oxolan-2-one)
	Hydroxymatairésinol ((3R,4R)-4-[(S)-Hydroxy(4-hydroxy-3-méthoxyphényl)méthyl]-3-(4-hydroxy-3-méthoxybenzyl)dihydro-2(3H)-furanone)
	Syringarésinol (4,4'-(1S,3aR,4S,6aR)-Tétrahydro-1H,3H-furo[3,4-c]furan-1,4-diylbis(2,6-diméthoxyphénol))
	Sésamine (5-[(3S,3aR,6S,6aR)-3-(1,3-benzodioxol-5-yl)-1,3,3a,4,6,6a-hexahydrofuro[3,4-c]furan-6-yl]-1,3-benzodioxole)
	Phytoestrogène (estrogen-like)
	Podophyllotoxine ((5R,5aR,8aR,9R)-5-hydroxy-9-(3,4,5-triméthoxyphényl)-5a,6,8a,9-tétrahydro-5H-[2]benzofuro[5,6-f][1,3]benzodioxol-8-one)
	Stéganacine (Acétate de (3aR,14R,14aR)-6,7,8-triméthoxy-3-oxo-1,3,3a,4,14,14a-hexahydrobenzo[3,4]furo[3',4':6,7]cycloocta[1,2-f][1,3]benzodioxol-14-yle)
	Eusidérine ((2R,3R)-5-méthoxy-3-méthyl-7-prop-2-ényl-2-(3,4,5-triméthoxyphényl)-2,3-dihydro-1,4-benzodioxine)
Stilbénoïdes	<b>Aglycones :</b>
	Picéatannol (4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphényl)éthényl]benzène-1,2-diol)
	Pinosylvine (5-[(E)-2-Phényléthényl]benzène-1,3-diol)
	Ptérostilbène (4-[(E)-2-(3,5-Diméthoxyphényl)éthényl]phénol)
	Resvératrol (5-[(E)-2-(4-hydroxyphényl)-éthényl] benzène-1,3-diol)

	<b>Glycosides :</b>
	Astringine ((2S,3R,4S,5S,6R)-2-[3-[(E)-2-(3,4-dihydroxyphényl)éthényl]-5-hydroxyphénoxy]-6-(hydroxyméthyl)oxane-3,4,5-triol)
	Trans-Picéide
	<b>Stilbène :</b>
	(E)-Stilbène (trans isomère) (trans-1,2-diphényléthylène)
	(Z)-Stilbène (cis isomère) (cis-1,2-diphényléthylène)
Coumarines	Coumarine (2H-chromèn-2-one, 1-benzopyran-2-one, 1,2-Benzopyrone)
	Umbelliférone (7-hydroxycoumarine)
	Aesculetin « esculétine ou esculétole » (6,7-dihydroxycoumarine, 6,7-dihydroxy-chromèn-2-one)
	Herniarine (7-méthoxycoumarine, méthyl-ombelliférone, 7-méthoxychromèn-2-one, méthoxy-7-coumarine)
	Psoralène (7H-furo[3,2-g]chromèn-7-one ou 7H-furo[3,2g]benzopyran-7-one)
	Impératorine (9-(3-méthylbut-2-énoxy)-7-furo[3,2-g]chromènone)
	4-phénylcoumarine
	Scopolétole ou scopolétine (7-hydroxy-6-méthoxychromèn-2-one)
Iso-coumarines	Isocoumarine (1H-isochromèn-1-one)
	Thunberginol A et B (A : 3-(3,4-dihydroxyphényl)-8-hydroxyisochromèn-1-one, B : 3-(3,4-dihydroxyphényl)-6,8-dihydroxyisochromèn-1-one)
	<b>Dihydroisocoumarines :</b>
	Hydrangéol
	Phyllodulcine
	Thunberginol C, D, E et F (C : 6,8-dihydroxy-3-(4-hydroxyphényl)-3,4-dihydroisochromèn-1-one, D : 3-(3,4-dihydroxyphényl)-6,8-dihydroxy-3,4-dihydroisochromèn-1-one, E : (3R)-6,8-dihydroxy-3-(3-hydroxy-4-méthoxyphényl)-3,4-dihydroisochromèn-1-one, F : (3Z)-3-[(3,4-dihydroxyphényl)méthylidène]-7-hydroxy-2-benzofuran-1-one)
	3-Acétyle-3,4-dihydro-5,6-diméthoxy-1H-2-benzopyran-1-one
Chromones	Chromone (Chromèn-4-one ou 1,4-benzopyrone)
	6,7-diméthoxy-2,3-dihydrochromone
	Eucryphin (Chromone rhamnoside, Chromone (2R,3R,4R,5R,6S)-6-Méthoxyoxane-2,3,4,5-tétrol)
	Cromolyn (disodium cromoglicat) (5-[3-(2-carboxy-4-oxochromen-5-yl)oxy-2-hydroxypropoxy]-4-oxochromène-2-carboxylique acide)
	Nedocromil sodium (disodium;9-éthyl-4,6-dioxo-10-propylpyrano[3,2-g]quinoline-2,8-dicarboxylate)

	Eugenin (5-Hydroxy-7-methoxy-2-methylchromen-4-one)
	Engeletin ((2R,3R)-5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-[(2S,3R,4R,5R,6S)-3,4,5-trihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-2,3-dihydrochromen-4-one)
Tanins	<b>Les Gallotanins ou tanins galliques :</b> Acide tannique (acide gallotannique, gallotannin) Penta-O-galloyl-D-glucose
	<b>Les ellagitanins ou tanins ellagiques :</b> Acide ellagique, Castalagine, Castaline, Castanopsinines A à H, Casuarictine, Excoecarianine, Excoecarinines A et B, Grandinine, Punicacortéine, Pterocarinine A et B, Rhoipteleanine A à G, Roburines A à E, Vescalagine, Vescaline
	<b>Les tanins complexes :</b> Acutissime
	<b>Les tanins condensés :</b> Procyanidol B-3, dimère catéchol-(4 $\alpha$ →8)-catéchol Catéchol-(4 $\alpha$ →8)-catéchol (Procyanidol B-3) (+)-Gallocatéchol-(4→8)-(-)épigallocatéchol(Prodelphinidol B-4) Proanthocyanidol A-1 (proanthocyanidols dimériques les plus simples sont les procyanidols) Proanthocyanidol C1 (se forment par additions successives d'unités flavaniques) (Trimère C-1 : formés de trois épicatechols avec des liaisons 4 $\beta$ →8) Proanthocyanidol C2 (Trimère C-2 : formés avec trois catéchols liés 4 $\beta$ →8) Poly-épicatechols Copolymères procyanidol-prodelphinidol

Tableau 1.2 : Principaux acides phénoliques dérivés des acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques, les phénylpropènes (phénylpropanoïdes) et les phénols simples.

Acides hydroxybenzoïques	R	R'	Acide phénolique
	H	H	<b>Acide <i>p</i>-hydroxybenzoïque</b>
	OH	H	Acide protocatéchique
	OCH <sub>3</sub>	H	<b>Acide vanillique</b>
	OH	OH	<b>Acide gallique</b>
	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Acide syringique
	H	H	<b>Acide salicylique (acide 2-hydroxybenzoïque)</b>

<b>Acides hydroxycinnamiques</b>			
	H	H	<b>Acide <i>p</i>-coumarique</b>
	H	H	<b>Acide <i>trans</i>-cinnamique</b>
	OH	H	Acide caféique
	OCH <sub>3</sub>	H	Acide férulique
	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	Acide sinapique
<b>Phénylpropènes (Phénylpropanoïdes)</b>			
	OCH <sub>3</sub>	OH	Eugénol (2-méthoxy-4-(2-propényl)-phénol)
<b>Phénols simples</b>			
	CH <sub>3</sub>	C <sub>2</sub> H <sub>7</sub>	Thymol

Techniquement parlant, seuls les dérivés de l'acide benzoïque sont des acides phénoliques et les dérivés de l'acide cinnamique sont des phénylpropanoïdes. La voie de base de la synthèse des acides phénoliques dans les plantes va des sucres aux acides aminés aromatiques, la phénylalanine et, dans de rares cas, la tyrosine. La formation de l'acide *trans*-cinnamique à partir de la phénylalanine et de l'acide *p*-hydroxycinnamique à partir de la tyrosine est catalysée par la phénylalanine ammoniaque lyase (PAL) et la tyrosine ammoniaque lyase (TAL), respectivement [103-105]. Les acides phénoliques sont présents dans certains aliments d'origine végétale, principalement sous forme liée. Les acides hydroxycinnamiques sont fréquemment présents dans les aliments sous forme d'esters simples avec l'acide quinique ou le glucose. L'acide hydroxycinnamique lié le plus connu est probablement l'acide chlorogénique, qui combine les acides caféique et quinique. Contrairement aux hydroxycinnamates, les dérivés de l'acide hydroxybenzoïque sont principalement présents dans les aliments sous forme de glucosides ; les acides *p*-hydroxybenzoïque, vanillique et protocatéchoïque sont les formes les plus courantes [101, 102, 106-109].

Les acides phénoliques se comportent comme des antioxydants, en raison de la réactivité de leur groupement phénol (substituant hydroxyle sur le cycle aromatique). Bien qu'il existe plusieurs mécanismes, on pense que le mode prédominant de l'activité antioxydante est le piégeage du radical par don d'atomes d'hydrogène.

D'autres mécanismes d'extinction des radicaux antioxydants établis sont le don d'électrons et la neutralisation de l'oxygène singulet [110]. Les substitués sur le cycle aromatique affectent la stabilisation et donc la capacité d'élimination des radicaux de ces acides phénoliques. Différents acides ont donc des activités antioxydantes différentes [111]. Le comportement antioxydant des phénols libres, estérifiés et glycosylés a été signalé [112].

Il existe une prise de conscience et un intérêt pour le comportement antioxydant et les avantages potentiels pour la santé associés à ces acides phénoliques simples. C'est leur rôle en tant qu'antioxydants alimentaires qui a reçu le plus d'attention dans la littérature récente [111, 112]. En raison de leur présence omniprésente dans les aliments d'origine végétale, les humains consomment quotidiennement des acides phénoliques. La fourchette de consommation est estimée de 25 mg à 1 g par jour selon le régime alimentaire consommé (fruits, légumes, céréales, thés, cafés, épices) [113].

L'acide caféique, l'un des principaux acides cinnamiques naturels, est connu pour bloquer la biosynthèse des leucotriènes, composants impliqués dans les maladies immunorégulatrices, l'asthme et les réactions allergiques [114]. D'autres études ont montré que l'acide caféique et certains de ses esters pourraient posséder une activité anti tumorale contre la cancérogenèse du côlon [112, 115].

#### 1.3.4.2 Intérêts des acides phénoliques

La majorité des acides phénoliques sont liés par des liaisons ester, éther ou acétal soit à des composants structurels de la plante (cellulose, protéines, lignine), soit à des polyphénols plus gros (flavonoïdes) ou à des molécules organiques plus petites (par exemple, glucose, quinine, acide maléique, ou acides tartriques) ou d'autres produits naturels (comme les terpènes) [116–120]. De nombreux acides phénoliques comme les dérivés d'acide cinnamique et benzoïque existent dans tous les aliments d'origine végétale (par exemple, les fruits, les légumes et les céréales) [121]. Cependant, seule une petite fraction existe sous forme d'acide libre. En raison de leur présence omniprésente dans les

aliments à base de plantes, les humains consomment quotidiennement des acides phénoliques. La fourchette de consommation estimée est de 25 mg à 1 g par jour selon l'alimentation (fruits, légumes, céréales, thés, cafés, épices, etc.).

Les acides phénoliques ont fait l'objet d'un grand nombre d'études chimiques, biologiques, agricoles et médicales [122].

#### 1.3.4.3 Source et rôles des acides phénoliques dans les plantes

Les acides phénoliques sont des métabolites secondaires et constituent un groupe important de composés hydrophiles dans les tissus des végétaux [123, 124]. Ils se produisent rarement sous forme libre et, par conséquent, ils apparaissent à de faibles concentrations. Chez les plantes, les composés phénoliques peuvent apparaître principalement sous leurs formes liées, par exemple sous forme de glycosides (glycosides phénoliques) et dans les esters sous forme de dépsides et depsidones [125]. De plus, dans les tissus des végétaux, des composés d'acides phénoliques avec d'autres constituants naturels ont été identifiés, par exemple avec des flavonoïdes, des acides gras, des stérols et des polymères de paroi cellulaire.

Les teneurs en acides phénoliques des matières premières végétales, ainsi que d'autres composés phénoliques, dépendent de nombreux facteurs. Les impacts les plus importants proviennent des conditions climatiques, de la culture, de la fertilisation et du moment de la récolte [126-128]. Les conditions de stockage des matières végétales et les méthodes de préparation sont également importantes [124]. On sait que les plantes de la famille des Lamiacées contiennent des quantités particulièrement importantes d'acides phénoliques [129]. Ces composés peuvent également être trouvés en grandes quantités dans les fruits et légumes. Les infusions à base de plantes sont la principale source d'acides phénoliques; ils sont également présents dans le thé noir et vert et le café [130]. Dans les produits alimentaires, les acides phénoliques peuvent influencer la couleur, la saveur, le parfum et la stabilité à l'oxydation des aliments. Dans ce cas, leur niveau dépend, entre autres facteurs, du type de procédé technologique appliqué à un matériel végétal donné [124].

#### 1.3.4.4 Source et rôles des acides phénoliques chez l'homme

Les acides phénoliques constituent un groupe important de composés, caractérisés par un large spectre d'activité pharmacologique. Ils sont responsables de l'élimination des

radicaux libres, de la chélation des ions métalliques et de la modification de l'activité enzymatique. Par ailleurs, ces composés présentent une activité antivirale, par exemple l'acide rosmarinique, une activité anti-inflammatoire, par exemple un mélange d'esters d'acides benzoïque et cinnamique; activités diurétiques, anti-allergiques, ainsi que cholagogiques et cholérétiques [130–132]. Les acides phénoliques participent aux processus de régénération et d'adaptation chez l'homme et sont utilisés en prévention contre de nombreuses maladies [133, 134]. Il a été prouvé qu'ils préviennent les maladies coronariennes, l'inflammation, le diabète de type 2 et contribuent au traitement du cancer. Plusieurs de ces composés, par exemple les acides férulique et caféique, sont appelés inhibiteurs de la croissance du cancer. En outre, des études récentes ont également montré une activité pro-coagulante des acides phénoliques isolés de *Blumea riparia* DC [135] et une voie possible de dégradation de l'acide salvianolique B dans une solution aqueuse et simulé des liquides gastriques et intestinaux [136].

La disponibilité des acides phénoliques chez l'homme est principalement influencée par leur forme chimique, ainsi que par la partie morphologique de la plante [137]. Les composés les plus hydrophiles se caractérisent par une biodisponibilité plus élevée et sont plus facilement absorbés dans la partie supérieure du système digestif. D'autre part, les substances sous leur forme liée sont absorbées après l'hydrolyse enzymatique, qui est médiée par la microflore intestinale.

L'importance biologique des acides phénoliques nécessite l'élaboration de méthodes analytiques appropriées permettant leur contrôle dans les médicaments et les aliments d'origine végétale, ainsi que dans les matières premières végétales utilisées pour leur production. Compte tenu de tout cela, l'objectif de ce travail est de présenter une synthèse des méthodes les plus utilisées pour l'extraction et la détermination des acides phénoliques dans les matières végétales.

#### 1.4 Analyse qualitative et quantitative et calibration par spectroscopie IRTF

La spectroscopie IRTF donne des informations sur les liens chimiques et les structures moléculaires. Elle permet d'obtenir la composition moléculaire qualitative ou semi-quantitative des matériaux organiques.

Lors de cette technique, le matériau est irradié par de la lumière infrarouge et chaque molécule absorbe la lumière infrarouge à des longueurs d'onde caractéristiques de

ses modes vibrationnels. Une mesure du spectre infrarouge permet ensuite d'identifier le ou les composés présents de par les fonctions organiques propres à chaque composé.

Les spectres IRTF révèlent la composition de solides, de liquides et de gaz. Le contenu informatif est très spécifique dans la plupart des cas, permettant ainsi une bonne discrimination entre des matériaux similaires. La vitesse de l'analyse IRTF est particulièrement utile dans les applications de screening, tandis que sa sensibilité rend possible de nombreuses applications de recherche avancées. L'ensemble de la gamme des applications IRTF est vaste.

La spectroscopie IRTF est fréquemment utilisée pour les tests de polymères et l'analyse pharmaceutique et médico-légale, mais l'application de cette technique est pratiquement sans limite et permet une analyse qualitative et quantitative d'une large gamme d'échantillons organiques et inorganiques.

Concernant l'analyse quantitative, il en existe deux types à savoir, la calibration monovariée et la calibration multivariée.

#### 1.4.1 Principe de la calibration monovariée

Le but des techniques d'étalonnage est de corréler des grandeurs mesurées comme l'absorption du rayonnement infrarouge avec les propriétés du système, par exemple, la concentration d'un composant dans un système à plusieurs composants. Habituellement, deux étapes sont nécessaires: l'étalonnage de la méthode et l'analyse pour déterminer une valeur d'un échantillon inconnu.

En premier, il y aura lieu de parler de l'analyse d'étalonnage univariée, qui est une méthode bien connue dans les travaux de laboratoire analytique. Pour étalonner le système, un ensemble d'échantillons d'étalonnage doit être mesuré.

La concentration de la substance en question contenue dans les échantillons d'étalonnage doit être connue. Ensuite, la hauteur d'un pic caractéristique pour la substance est déterminée à partir des spectres et tracée en fonction des concentrations connues. Le graphique résultant sera utilisé pour évaluer la concentration d'un échantillon inconnu en mesurant la hauteur du pic et en lisant la concentration correspondante sur le graphique. Afin d'analyser des échantillons à plusieurs composants, une caractéristique de signal pour

chaque composant doit être utilisée pour l'étalonnage et l'analyse. Ces signaux doivent être bien séparés pour être indicatifs.

En chimie analytique, une courbe d'étalonnage, également connu en tant que courbe de référence (figure 1.1), est une méthode générale pour déterminer la concentration d'une substance dans un échantillon inconnu, et ce, en comparant l'inconnu à une série d'étalonnage de concentration connue [138].

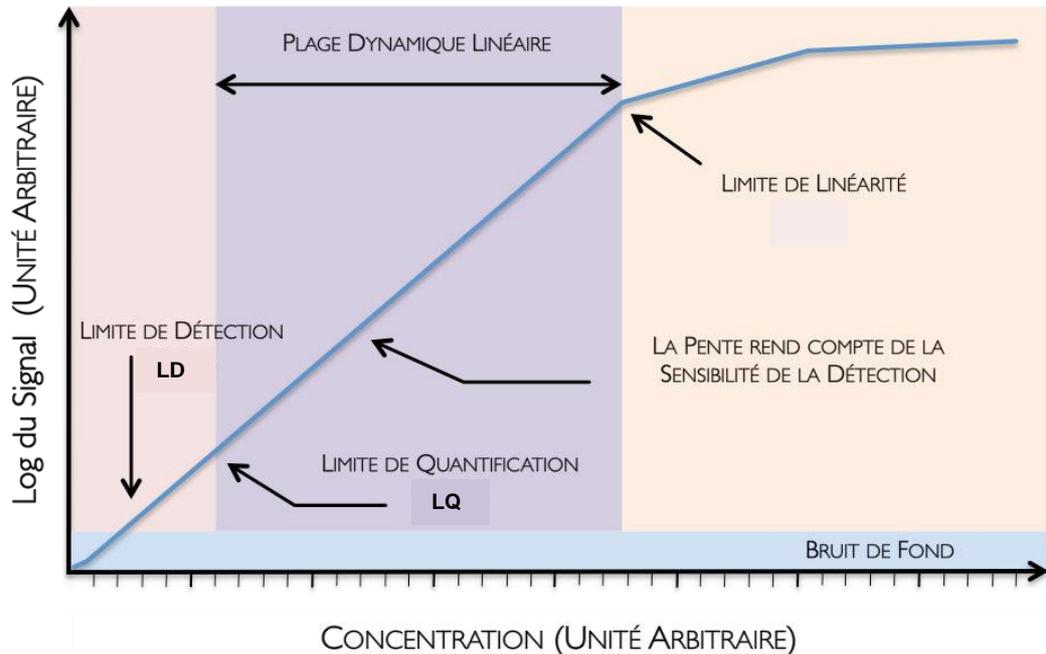


Figure 1.1 : Tracé de courbe d'étalonnage montrant des paramètres analytiques de la calibration monovariée [140]

La courbe d'étalonnage est une représentation graphique de la façon dont la réponse instrumentale, le signal analytique que l'on appelle, varie avec la concentration de l'analyte (substance à mesurer). L'opérateur prépare une série d'étalonnage à travers une gamme de concentrations proches de la concentration attendue de l'analyte dans l'inconnu. Les concentrations des étalons doivent se situer dans la gamme de travail de la technique (instrumentation) qu'ils utilisent. L'analyse de chacune de ces normes en utilisant la technique choisie produira une série de mesures [139]. Pour la plupart des analyses, une parcelle de réponse de l'instrument par rapport à la concentration montrera une relation linéaire. L'opérateur peut mesurer la réponse de l'inconnu et, en utilisant la courbe d'étalonnage, peut interpoler pour trouver la concentration de l'analyte [139].

### 1.4.1.1 Caractéristiques analytiques d'étalonnage

#### 1.4.1.1.1 Sensibilité

Les méthodes quantitatives d'analyse nécessitent un étalonnage dont le but est de construire un modèle mathématique qui sert à prédire les concentrations d'échantillons (figure 1.2). Dans ce cas, l'instrument de mesure est vu comme une boîte noire dont l'entrée est l'analyte pur, souvent introduit sous la forme d'une solution étalon. La fonction de réponse de l'instrument le transforme en un signal électrique qui représente la sortie du système. Ce système subit des perturbations aléatoires dues à son environnement, comme les variations de température, les pollutions externes, l'instabilité de la tension électrique, les vibrations, etc. L'ensemble de ces perturbations forment le bruit de fond [140].

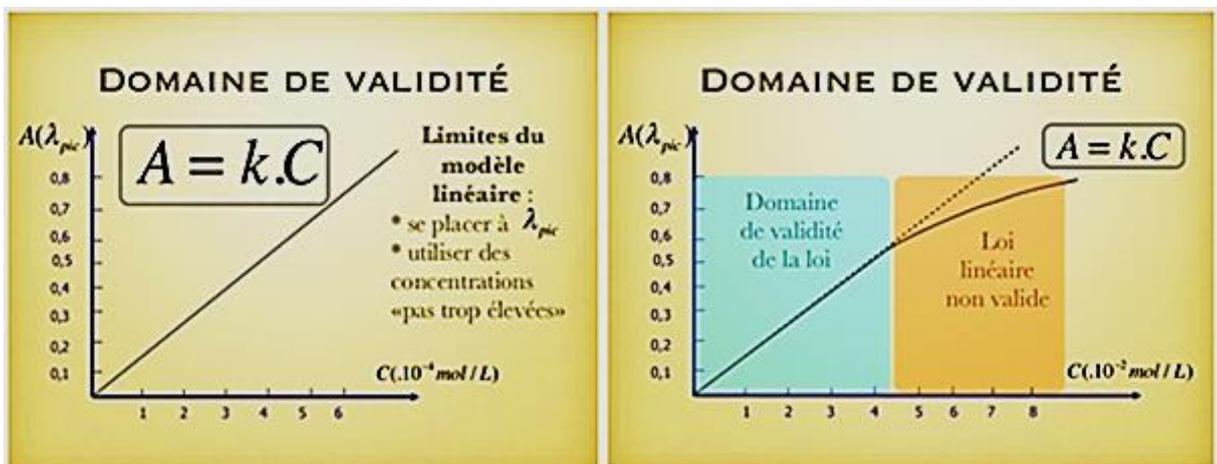


Figure 1.2 : Courbes d'étalonnage de la calibration monovariée [140]

Le point de départ d'un étalonnage repose sur le choix d'un modèle correct. Dans la majorité des cas, les méthodes s'appuient sur des phénomènes physico-chimiques qui peuvent se ramener à un modèle linéaire, au moins pour une certaine gamme de concentration. Mais, pour certains types de détermination, les mécanismes sont moins bien connus et on doit utiliser des modèles plus compliqués non linéarisables.

Finalement, le modèle le plus fréquemment utilisé est du type :  $y_i = a_0 + a_1 x_i + e_i$  ( $e_i$  le bruit de fond appelé résidu). La valeur théorique devient :  $y_i = a_0 + a_1 x_i$ . La figure 8 représente l'interprétation physique des deux coefficients dont  $a_0$  est le blanc qui correspond à la réponse en absence d'analyte et  $a_1$  étant la sensibilité ou la pente du modèle d'étalonnage donnant la réponse analytique d'une unité de concentration. Le problème de l'étalonnage revient à calculer  $a_0$  et  $a_1$ . Elle est bien adaptée à ce problème car

il existe une relation de causalité entre les deux variables. On dit que « y » est une variable expliquée ou dépendante et que « x » est une variable explicative ou indépendante [140].

Le critère analytique de la sensibilité se traduit par le calcul d'un des indices de limite de détection ou de limite de quantification et définies par l'opérateur.

#### 1.4.1.1.2 Limite de détection (LD)

C'est la plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un composé pour analyse, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc, mais non nécessairement quantifiée. En fait, il faut prendre en compte deux risques : Le risque  $\alpha$ , qui est de considérer la substance présente dans le composé alors que sa grandeur est nulle, et le risque  $\beta$  qui est de considérer absente une substance alors que sa grandeur n'est pas nulle [140].

Nous distinguons les valeurs limites suivantes :

Valeur limite inférieure : cette limite, appelée limite de quantification, correspond à la plus petite concentration qui peut être quantifiée avec suffisamment de certitude par l'appareil.

Valeur limite supérieure : cette limite, souvent appelée par défaut limite de linéarité, correspond à la plus grande concentration qui peut être quantifiée avec suffisamment de certitude [141].

#### 1.4.1.1.3 Limite de quantification (LQ)

C'est la plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un composé à analyser pouvant être déterminée quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans la méthode avec une variabilité définie [140].

#### 1.4.1.1.4 Linéarité

C'est la capacité d'une méthode d'analyse, comprise dans un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans le composé à analyser en laboratoire. Cette proportionnalité s'exprime au travers d'une expression mathématique définie a priori. Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de grandeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de confiance connu [140].

#### 1.4.1.1.5 Protocole de base et calculs

Il est basé sur l'utilisation des résultats obtenus lors de l'étude de linéarité qui ont permis de calculer les paramètres de la fonction d'étalonnage  $A = a.C + b$ .

Les estimations de la limite de détection LD, et de la limite de quantification LQ se calculent selon les formules suivantes [140] :

$$LD = \frac{3x \sigma}{a} \quad \text{Limite de détection estimée} \quad \sigma : \text{l'écart type pour 10 mesures du blanc}$$

$$LQ = \frac{10x \sigma}{a} \quad \text{Limite de quantification estimée} \quad (\text{Blanc : mesure sans analyte})$$

#### 1.4.1.1.6 Coefficient de variance CV (%) ou DSR

Le coefficient de variance (ou %RSD en anglais) est la valeur absolue du coefficient de variation. Il s'exprime généralement sous forme de pourcentage. Le CV est égal à l'écart-type ( $\sigma$ ) rapporté à la moyenne arithmétique de dix mesures d'échantillon ( $x$ ) et multiplié par 100 [141].

$$CV (\%) = \frac{\sigma}{x} \times 100$$

#### 1.4.1.1.7 Spécificité

La spécificité d'une méthode est sa capacité à ne mesurer que le composé recherché. S'il existe un doute sur la spécificité de la méthode testée, le laboratoire pourra mettre en œuvre des plans d'expérience visant à vérifier la spécificité.

Les étalonnages univariés souffrent des inconvénients suivants [142, 143] :

- Les valeurs aberrantes ou les perturbations causées par des composants inconnus supplémentaires ne sont pas reconnues car la concentration de l'analyte est déterminée en un seul point spectral.
- Les fluctuations statistiques causées par le bruit du détecteur sont directement reflétées par les valeurs de concentration. Par conséquent, les mesures doivent être répétées plusieurs fois.
- Les pics utilisés pour l'analyse des systèmes à plusieurs composants doivent être bien séparés, ce qui est un inconvénient majeur en spectroscopie IR.

• L'analyse des systèmes multicomposants suppose la validité de la loi de Beer-Lambert, c'est-à-dire une corrélation linéaire entre la concentration et la réponse spectrale. Cela ne tient pas compte des fluctuations de température ou des interactions intermoléculaires.

#### 1.4.2 Principe de la calibration multivariée PLS (partial least square)

La chimiométrie est l'application des principes de la métrologie et des mathématiques et statistiques à variables multiples pour extraire efficacement le maximum d'informations à partir des données. La chimiométrie est aujourd'hui appliquée à de nombreux domaines de la chimie analytique, notamment aux méthodes séparatives telles que la chromatographie et l'électrophorèse et aux méthodes spectroscopiques telles que Raman, IRTF, SPIR, VIS-SPIR.

L'application la plus réussie de la combinaison de la chimiométrie et des données spectrales a produit les méthodes de calibration multivariable suivantes :

- Régression linéaire multiple (MLR)
- Régression de composant principal (PCR)
- Fraction de base radiale combinée avec PLS (RBF-PLS)
- Régression de réseaux neurologiques (NN)
- Régression localement pesée (LWR)
- Régression des moindres carrés partiels (PLS)

Nous nous intéressons, dans le cadre de cette thèse, à la méthode de régression PLS qui est incluse dans les méthodes de calibration multivariable du large domaine de la chimiométrie comme l'illustre la figure 1.3.

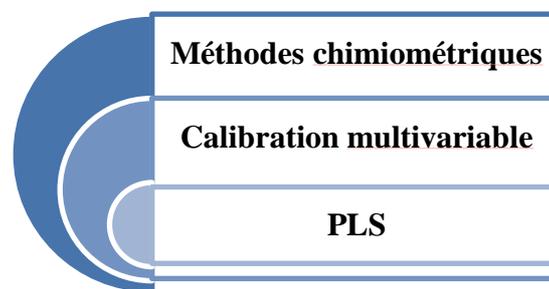


Figure 1.3 : Position de la régression PLS dans le large domaine de la chimiométrie

La régression PLS a été développée à l'origine par Herman Wold dans les années 60 comme technique économétrique puis fut popularisée auprès des chimistes par son propre fils, Svante Wold, pour être appliquée au contrôle de processus industriels [144].

La régression PLS est une méthode d'analyse quantitative statistique permettant de construire des modèles prédictifs lorsque les variables explicatives sont nombreuses et très corrélées. L'accent est mis dans cette méthode sur la prédiction et non sur l'identification, problématique qui relève plutôt des différentes techniques descriptives d'analyse factorielle [143].

Les étalonnages multivariés utilisent non seulement un point spectral unique, mais prennent en compte les caractéristiques spectrales sur une large gamme. Par conséquent, l'analyse des bandes spectrales qui se chevauchent ou des pics larges devient réalisable. Les informations contenues dans les spectres des échantillons d'étalonnage seront comparées aux informations des valeurs de concentration en utilisant une régression PLS. La méthode suppose que les variations systématiques observées dans les spectres sont une conséquence du changement de concentration des composants. Cependant, la corrélation entre la concentration des composants et la variation du signal infrarouge n'a pas à être linéaire.

Les étalonnages multivariés nécessitent un grand nombre d'échantillons d'étalonnage et fournissent une grande quantité de données (plusieurs spectres avec des centaines ou des milliers de points de données pertinents). Afin de gérer convenablement les données, les données spectrales et les données de concentration sont écrites sous la forme de matrices, où chaque ligne dans la matrice de données spectrales représente un spectre d'échantillon. La matrice de données de concentration contient les valeurs de concentration correspondantes des échantillons. Les matrices seront décomposées en leurs vecteurs propres appelés facteurs ou composants principaux. L'avantage de cette approche est que tous les composants principaux ne sont pas nécessaires pour décrire les caractéristiques spectrales pertinentes; par exemple, certains de ces vecteurs représentent simplement le bruit spectral de la mesure. Seuls les composants principaux pertinents seront alors utilisés à la place des données spectrales d'origine, conduisant ainsi à une réduction considérable de la quantité de données. Un algorithme de régression PLS sera déployé pour trouver la meilleure fonction de corrélation entre la matrice de données spectrale et de concentration.

La détermination du nombre de composants principaux est un point crucial pour la qualité du modèle d'étalonnage. L'utilisation d'un nombre insuffisant de composants principaux conduit à une mauvaise reproduction des données spectrales et, par conséquent, le modèle ne pourra pas reconnaître les changements dans les caractéristiques spectrales. C'est ce qu'on appelle le «sous-ajustement». D'un autre côté, inclure trop de composants principaux ne fait qu'ajouter du bruit spectral à la régression et n'augmente pas la quantité d'informations précieuses («sur-ajustement»).

Les systèmes à plusieurs composants peuvent être analysés soit pour chaque composant séparément (algorithme PLS 1), soit simultanément pour tous les composants (algorithme PLS 2). Cependant, l'analyse PLS 1 donne généralement de meilleurs résultats et est donc principalement utilisée pour les étalonnages multivariés.

Le progiciel OPUS / QUANT intégré dans le spectrophotomètre IRTF et utilisé lors de la réalisation de la thèse, est conçu pour l'analyse quantitative de spectres constitués de bandes présentant un chevauchement considérable. Habituellement, ils proviennent d'échantillons contenant un ou plusieurs composants dans une matrice. Le logiciel permet de déterminer simultanément la concentration de plus d'un composant dans chaque échantillon. Pour cela, le QUANT utilise une méthode d'ajustement des moindres carrés partiels (PLS) et exclusivement l'algorithme PLS1.

#### 1.4.2.1 Validation des modèles PLS

L'analyse multivariable consiste à modéliser les variations d'un certain nombre de variables. Pour ce faire, deux opérations sont nécessaires à savoir l'étalonnage et la prédiction. Un modèle qui doit représenter le mieux possible la réalité doit-être de bonne qualité c'est-à-dire avoir une bonne validité de la calibration et une bonne prédictivité.

Il existe deux types de validation: la validation croisée «Cross Validation» et la validation de l'ensemble des tests «Test Set Validation».

#### 1.4.2.2 Validation croisée

Un seul ensemble d'échantillons représentatifs du système à plusieurs composants est utilisé pour calibrer et valider le système. Avant de commencer l'étalonnage, un échantillon est exclu de l'entité d'échantillons. Cet échantillon est utilisé pour la validation. Les échantillons restants sont utilisés pour calibrer le système. L'échantillon utilisé pour valider

le système ne doit pas faire partie du jeu d'étalonnage. QUANT réitère ce cycle, en commençant par le premier échantillon, jusqu'à ce que tous les échantillons aient été utilisés pour la validation [142]. L'avantage de la validation croisée est le plus petit nombre d'échantillons requis. En particulier, si le nombre d'échantillons disponibles est limité, cette méthode doit être préférée lors de la validation de l'ensemble de test.

#### 1.4.2.3 Validation de l'ensemble de test

La validation de l'ensemble de test utilise deux ensembles d'échantillons indépendants, l'un pour l'étalonnage du système et l'autre pour la validation du modèle. Les deux ensembles doivent comprendre à peu près le même nombre d'échantillons et chaque ensemble doit couvrir toute la plage de concentration du système étudié [142].

L'avantage de la méthode de l'ensemble de test est la rapidité du calcul lorsqu'il s'agit d'un très grand nombre d'échantillons. Parfois, cette méthode est même requise.

#### 1.4.3 Paramètres analytique et d'optimisation de validation d'un modèle PLS

Le logiciel Quant 2 présente les résultats sous forme de représentations graphiques ou sous forme de tableaux et afin de valider les méthodes optimisées, le logiciel calcul les paramètres analytiques suivants [144] :

- **$R^2$**  : Le coefficient de détermination donne le pourcentage de variance présent dans les valeurs des composantes réelles, qui est reproduit dans la prédiction.  $R^2$  approche 100% quand les valeurs de concentration prédites approchent les valeurs réelles.
- **Rang** (*facteur* ou bien *variable latente*) : c'est le nombre de vecteurs PLS utilisés dans le Quant2.
- **RMSEP** (ou *Erreur Quadratique Moyenne de Prédiction*) : dans le cas de test du set de validation, la valeur de l'erreur *RMSEP* peut être prise comme critère pour juger la qualité de la prédiction du modèle utilisé.
- **RMSEE** (ou *Erreur Quadratique Moyenne d'Estimation*) : ce critère détermine respectivement la précision et la dispersion statistique des estimations de calibrage.
- **RMSECV** (ou *Erreur Quadratique Moyenne de Validation Croisée*) : les valeurs de *RMSECV* sont utilisées pour estimer la fiabilité d'un modèle quand la méthode de la validation croisée est choisie.

Le Quant 2 permet à l'utilisateur d'établir différents paramètres de régression comme les gammes d'optimisation, l'option de prétraitement spectral, les régions spectrales utilisées et le rang jusqu'à atteindre les meilleurs résultats possibles.

Le prétraitement des données est une étape importante dans l'exécution d'un étalonnage. Pour assurer la reproductibilité des échantillons d'étalonnage, plusieurs spectres de chaque échantillon doivent être acquis. Si les spectres du même échantillon ne sont pas identiques, une procédure de prétraitement des données doit être choisie pour les aligner les uns avec les autres.

Le but du prétraitement des données est donc d'assurer une bonne corrélation entre les données spectrales et les valeurs de concentration. Les méthodes suivantes peuvent être appliquées [144-153] :

- **Correction d'offset** : déplace les spectres afin de régler le minimum de y à zéro.
- **Soustraction d'une droite** : s'adapte à une ligne droite du spectre et la soustrait. Cela explique une inclinaison dans le spectre enregistré.
- **Dérivée première** : calcule la première dérivée du spectre. Cette méthode met l'accent sur les bords abrupts d'un pic. Il est utilisé pour souligner les caractéristiques prononcées, mais les petites fonctionnalités sur un large fond. Le bruit spectral est également amélioré.
- **Dérivée seconde** : similaire à la première dérivée, mais avec un résultat plus précis.

### 1.5 Apport des méthodes PLS-IRTF dans le domaine de la chimie verte

Se fondant sur les principes de la chimie verte, les méthodes PLS-IRTF offrent un outil de test « vert » permettant une réduction des produits chimiques et la minimisation de déchets aussi bien à l'échelle de laboratoire qu'à l'échelle industrielle. Pour classer les méthodes analytiques dans l'échelle dite du certificat vert, les points de pénalité, associés à la quantité de réactif, au volume de déchets et aux quantités d'énergie consommées, sont calculés selon des critères établis dans la littérature [154] (figure 1.4).

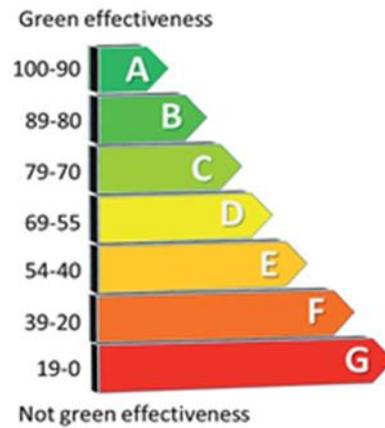


Figure 1.4 : Certificat vert « Green certificate » utilisé pour la classification des différentes méthodes analytiques [154].

Sur la base des données présentées dans les tableaux 1.3 et 1.4, les points de pénalité pour les risques de certains réactifs et les points de pénalité pour l'énergie des techniques d'analyse, la méthode peut être déduite. Cette analyse verte idéale sera un paramètre clé de notre concept analytique d'Eco-Scale.

Parmi les méthodes directes, la surveillance électrochimique en temps réel et la spectroscopie vibrationnelle (IRTF, NIR et Raman) sont considérées comme des outils analytiques verts prometteurs.

L'étalonnage et la validation des méthodes analytiques sont très importants pour l'assurance qualité. Ce sont des prérequis pour l'analyse quantitative.

Cependant, l'utilisation de solutions d'étalonnage, d'étalons internes / externes, de matériaux de référence étalons ou de dilution isotopique contribue à une consommation de réactifs et à une production de déchets accrues. Cette étape de la procédure analytique n'est pas toujours prise en compte dans l'évaluation du caractère écologique des méthodologies analytiques, mais sa contribution à la production de déchets ne doit pas être sous-estimée.

Tableau 1.3 : Les points de pénalité pour les risques de certains réactifs [155].

Réactifs	Nombre de pictogrammes	Mot de signal	Points de pénalité
Acide acétique (glacial)	2	danger	4
Acide acétique (30%)	1	danger	2
Solution d'ammoniac (25%)	3	danger	6
Acide benzoïque	1	avertissement	1
Dichlorométhane	1	avertissement	1
Acide chlorhydrique (37%)	2	danger	4
Peroxyde d'hydrogène	2	danger	4
n-hexane	4	danger	8
Acide nitrique (65%)	2	danger	4
Dichromate de potassium	5	danger	10
Hydroxyde de sodium	1	danger	2
Acide sulfurique	1	danger	2

Tableau 1.4 : Les points de pénalité pour l'énergie de certaines techniques d'analyse [155].

Technique	Energie utilisée	Points de pénalité
IRTF	< 0,1 KWh par échantillon	0
Spectrofluorométrie		
Titrage		
UPLC		
Spectrométrie UV-Vis		
SAA	≤ 1.5 KWh par échantillon	1
CG		
CL		
CG-SM	1.5 KWh par échantillon	2
CL-SM		
RMN		
Diffraction des rayons X		

L'équation de calcul des points de pénalités se fait comme suit ;

$$y = a \times x^b$$

Où :

y est la valeur de pénalité, x est le volume de réactifs; a et b sont les deux coefficients:

a=0.61±0.05 et b=0.31±0.02 pour la consommation de réactifs

a=1.50±0.08 and b=0.40±0.02 pour la génération de déchets)

### 1.6 Procédés d'extraction des composés phénoliques

La solubilité des composés phénoliques, comme indiqué dans le tableau 1.5, est régie par leur nature chimique dans les pentes qui peuvent varier de substances simples à très hautement polymérisées. Les matières végétales peuvent contenir des quantités variables d'acides phénoliques, de phénylpropanoïdes, d'anthocyanes et de tanins, entre autres. Il existe une possibilité d'interaction des composés phénoliques avec d'autres composants végétaux tels que les glucides et les protéines. Ces interactions peuvent conduire à la formation de complexes qui peuvent être assez insolubles. La solubilité des composés phénoliques est également affectée par la polarité du ou des solvants utilisés. Par conséquent, il est très difficile de développer une procédure d'extraction adaptée à l'extraction de tous les composés phénoliques des végétaux. Les extraits phénoliques de matières végétales sont toujours un mélange diversifié de produits phénoliques solubles dans le système du solvant utilisé. Des étapes supplémentaires peuvent être nécessaires pour éliminer les substances phénoliques et non phénoliques indésirables telles que les cires, les terpènes, les graisses et les chlorophylles.

Tableau 1.5 : Solubilité des phénols les plus répandu dans la nature<sup>(\*)</sup>.

<b>Phénols</b>	<b>Solubilité dans l'eau et solvants organiques</b>
Carvacrol	Insoluble dans l'eau. Soluble dans l'éthanol, le diéther, le tétrachlorométhane CCl <sub>4</sub> et l'acétone.
<b>Thymol</b>	Pratiquement Insoluble dans l'eau, 1 g se dissout dans environ 1000 ml d'eau, 1 ml d'alcool (méthanol), 0,7 ml de chloroforme, 1,5 ml d'éther, 1,7 ml d'huile d'olive à 25°C; Soluble dans les acides acétiques glaciaires, les huiles, l'hydroxyde alcalin fixé. Soluble dans les alcools, gras et huile. Très soluble dans les solutions alcalines aqueuses.
Trans-cinnamaldéhyde)	Soluble dans l'éther, le chloroforme, et le dichlorométhane CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . Insoluble dans l'éther de pétrole.
<b>Acide cinnamique (Acide Trans-cinnamique)</b>	Soluble dans le dichlorométhane CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> . Soluble dans l'éthanol, le méthanol, l'éther de pétrole, le chloroforme. Soluble dans le benzène, l'éther, l'acétone, l'acide acétique. Insoluble dans l'eau.

<b>Eugénol</b>		<p>Peu soluble dans l'eau.</p> <p>Miscible avec l'alcool (méthanol), le chloroforme, le cyclohexane, l'éther et les huiles.</p> <p>Très soluble dans l'éthanol et le dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math> et un peu dans le chloroforme.</p>
<b>Acide Coumarique</b>	<b>p-</b>	<p>Peu soluble dans l'eau.</p> <p>Soluble dans l'éthanol et l'éther diéthylique.</p>
Coumarine		<p>Soluble dans l'éthanol.</p> <p>Très soluble dans le chloroforme.</p> <p>Soluble dans les alcools et dans les solvants organique comme l'éther diéthylique ou les solvants chlorés.</p>
Vanilline		<p>Peu soluble dans l'eau.</p> <p>Librement soluble dans le chloroforme, l'éther, le <math>\text{CS}_2</math> (disulfure de carbone), l'acide acétique glacial et la pyridine.</p>
<b>Acide vanillique</b>		<p>Insoluble dans le dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>.</p> <p>Soluble dans l'eau et dans l'éthanol (absolu 99%).</p> <p>Possibilité de solubilisation dans le dichlorométhane en utilisant un solvant biphasique : dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>/éthanol absolu 99% (<math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>/EtOH V/V 9/1) (90% de <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>-10% EtOH).</p>
<b>Acide hydroxybenzoïque</b>	<b>p-</b>	<p>Très peu soluble dans l'eau et le chloroforme.</p> <p>Soluble voir extrêmement soluble dans les alcools, l'éther et l'acétone.</p> <p>Soluble dans l'éthanol absolu (99%).</p> <p>Possibilité de solubilisation dans le dichlorométhane en utilisant un solvant biphasique : dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>/éthanol absolu 99% (<math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>/EtOH V/V 9/1) (90% de <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math>-10% EtOH).</p>
<b>Acide salicylique</b>		<p>Soluble dans le dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math> (nécessite une agitation longue et vigoureuse).</p> <p>Solubilité en % de poids : <math>\text{CCl}_4</math> (0.26 à 25°C), benzène (0.775 à 25°C), propanol (27.36 à 21°C), l'éthanol absolu (34,87) 21°C) et l'acétone (396 à 23°C).</p> <p>Soluble dans l'alcool (méthanol) et l'éther.</p> <p>Légèrement soluble dans le toluène.</p>
Guaiacol		<p>Soluble dans le tétrachlorure de carbone <math>\text{CCl}_4</math>.</p> <p>Miscible avec l'alcool (méthanol), le chloroforme, l'éther, l'acide acétique glacial.</p> <p>Légèrement soluble dans l'éther de pétrole.</p> <p>Soluble dans les solutions d'hydroxyde de sodium.</p> <p>Très peu soluble dans l'eau.</p>
Pyrocatéchol (catéchol)		<p>Soluble dans le chloroforme, l'éther, le benzène et le <math>\text{CCl}_4</math>.</p> <p>Soluble dans le dichlorométhane <math>\text{CH}_2\text{Cl}_2</math> (nécessite une agitation longue et vigoureuse).</p> <p>Très soluble dans la pyridine.</p> <p>Très soluble dans l'alcool (méthanol), l'éther diéthylique et l'acétate d'éthyle.</p>
Aloe-emodin		<p>Pratiquement insoluble dans l'eau.</p> <p>Soluble dans l'alcool (méthanol) à chaud, le méthanol, le chloroforme, le DMSO (50 mg/ml), l'éther, le tétrachlorure de carbone <math>\text{CCl}_4</math>, le <math>\text{CS}_2</math> (disulfure de carbone) et le benzène.</p>

	Les structures en -m,-o,-p sont modérément soluble dans l'eau (24g/l) comparé au phénol (70g/l). o-crésol : Miscible avec l'éthanol, le chloroforme et l'éther. Miscible avec l'acétone, le benzène et le CCl <sub>4</sub> . Soluble dans les huiles végétales. p-crésol : Miscible avec l'éthanol, l'éther, l'acétone, le benzène et le CCl <sub>4</sub> . Soluble dans les huiles végétales, la glycérine et alkali dilué. m-crésol : Miscible avec l'alcool (méthanol), le chloroforme et l'éther. Miscible avec l'acétone, le benzène et le CCl <sub>4</sub> .
Crésol (-m,-o,-p)	
Résorcinol	Soluble dans l'eau, l'alcool (méthanol) et l'éther. Insoluble dans le chloroforme et le disulfure de carbone CS <sub>2</sub> /
Resvératrol	Solubilité dans l'eau 3mg/100ml (0.03mg/ml) (très peu soluble) Soluble dans les solvants organiques comme l'éthanol (50 mg/ml), le DMSO (16 mg/ml) et le diméthyle formamide (65 mg/ml).
Phénol	Modérément soluble dans l'eau. Très soluble dans l'alcool (méthanol), le chloroforme, l'éther, le glycérol, le disulfure de carbone CS <sub>2</sub> , le pétrole, dans les huiles volatiles et fixes et les alkali hydroxydes aqueuse. Miscible avec l'acétone. Très soluble dans l'éther. Moins soluble dans les hydrocarbures paraffiniques. Solubilité limité dans l'eau de 0 à 65°C ; au-dessus de 65.3°C le phénol et l'eau sont miscible en toute proportions.
Safrole	Insoluble dans l'eau. Soluble dans l'alcool (méthanol), miscible avec le chloroforme et l'éther.
Chavicol	Modérément soluble dans l'eau. Soluble dans l'alcool (méthanol), l'éther et le chloroforme.
Estragol (isomère de l'anéthol)	Soluble dans l'alcool (méthanol) et le chloroforme. Peu soluble sans l'eau (0.178 mg/ml à 25°C).
<b>Acide gallique</b>	1g se dissout dans : 87ml d'eau, 3ml d'eau bouillante, 6ml d'alcool (méthanol), 100ml d'éther, 10ml de glycérol et 5ml d'acétone. Pratiquement insoluble dans le benzène, le chloroforme et l'éther de pétrole.
Hydroquinone	Très soluble dans le tétrachlorure de carbone CCl <sub>4</sub> . Soluble dans l'éther diéthylique. 1g d'hydroquinone/100g de solvant (à 30°C) ; éthanol (46.4), l'acétone (28.4), l'eau (8.3), le benzène (0.06) et le CCl <sub>4</sub> (0.01). Peu ou modérément soluble dans l'eau : 7% soluble dans l'eau à 25°C (sa solubilité augmente avec la température : de 6.72g/l à 20°C à 66g/l à 100°C).
Acide rosmarinique	Soluble dans l'éthanol, le DMSO ou le diméthylformamide pour 25mg/ml.
Carnosol	Soluble dans le DMSO (250mg/ml), l'éthanol (8mg/ml), le méthanol (5mg/ml) et le DMF (35mg/ml). Très peu soluble dans l'eau ; de l'ordre de 1.42mg/l à 25°C.

Acide tannique	Très soluble dans l'alcool (méthanol) et l'acétone. Insoluble dans l'éther, le benzène, le chloroforme et le bisulfure de carbone. 1g se dissous dans 0.35ml d'eau et 1ml de glycérol tiède. Pratiquement insoluble dans l'éther de pétrole et le CCl <sub>4</sub> .
Acide pyrogallique (pyrogallol)	Très soluble dans l'éthanol et l'éther diéthylique. 1g se dissous dans 1.7ml d'eau, 1.3ml d'alcool (méthanol) et 1.6ml d'éther. Légèrement soluble dans le benzène, le chloroforme et le bisulfure de carbone. Soluble dans les solvants oxynés.
Anéthol (p-propénylanisol, isoestragol, camphre d'anis, ou huile d'anis)	Miscible avec le chloroforme et l'éther. Pratiquement insoluble dans l'eau. Solubilité de l'éthanol et le méthanol : 1:8 dans 80% de méthanol; 1:1 dans 90% d'éthanol.
Acide férulique	soluble dans l'eau. Soluble dans l'éthanol absolu (99%). Possibilité de solubilisation dans le dichlorométhane en utilisant un solvant biphasique : dichlorométhane CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /éthanol absolu 99% (CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> /EtOH V/V 9/1) (90% de CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> -10% EtOH).
Acide chlorogénique	Se dissout facilement dans l'éthanol et l'acétone. Se dissout à peine dans les solvants d'acétate éthylique. Solubilité dans le DMSO (solvant polaire) égale à 71mg/ml. Solubilité dans l'éthanol égale à 71mg/ml. Solubilité dans l'eau égale à 40 g/L à 25°C avec une meilleure solubilité dans l'eau chaude.
Le phloroglucinol ou benzène-1,3,5-triol	Soluble dans l'acétone, l'éthanol, l'éther diéthylique, l'éther et la pyridine. Dans l'eau, le phloroglucinol cristallise sous forme d'un dihydrate qui a un point de fusion de 116–117 °C mais la forme anhydre fond à plus haute température à 218–220 °C. Il se décompose à sa température d'ébullition mais il est possible de le sublimer. La solubilité dans l'eau est égale à 10.6 mg/ml (10.6 g/L) à 20 °C.
L'acide pentanoïque, ou acide méthyléthylacétique ou Acide valérique	Sa solubilité est limitée dans l'eau mais complète dans les solvants organiques communs. Librement soluble dans l'alcool (éthanol) et dans l'éther. Soluble dans les solvants oxygénés. Légèrement soluble dans le tétrachlorométhane CCl <sub>4</sub> .
L'acide sinapique (ou parfois acide sinapinique) ou acide 3,5- diméthoxy-4- hydroxycinnamique	Insoluble dans l'eau. Soluble dans l'éthanol et le méthanol. Ethanol : Solubilité de l'acide sinapique dans l'éthanol est de 0.790 M. Méthanol : Solubilité de l'acide sinapique dans le méthanol est de 1.040 M. THF : Solubilité de l'acide sinapique dans le THF est de 0.446 M. Eau : Solubilité de l'acide sinapique dans l'eau est de 0.001 M.

<sup>(\*)</sup> Le tableau a été établi en utilisant les références [156—180].

Des solvants tels que le méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétone, l'acétate d'éthyle, le diméthylformamide et leurs combinaisons ont également été utilisés pour l'extraction de composés phénoliques, souvent avec des proportions d'eau différentes [181–186] (tableau 1.6). Par exemple, la rutine et l'acide chlorogénique ont été extraits de manière efficace des herbes de sarrasin par macération et agitation dans 30% d'éthanol à 60°C pendant 2 h [187]

Tableau 1.6 : Solvants organiques utilisés pour l'extraction des polyphénols [188].

<b>Composés polyphénoliques</b>	<b>Solvants</b>	<b>Références</b>
Acides phénoliques, flavonols, anthocyanines	Acétate d'éthyle	[189, 190]
Anthocyanines, acides phénoliques, catéchines, flavanones, flavones, flavonols, procyanidines, acides ellagique, Rutine, acides chlorogénique	Méthanol et différentes formes aqueuses (50–90%, v/v)	[191-194]
Anthocyanines, flavonols, phénoliques libre	Ethanol et différentes formes aqueuses (10–90%, v/v)	[191, 195-199]
Flavonols, acides phénoliques libre	Chloroforme	[200]
Flavonols, acides phénoliques	Diéthyl éther	[193]
Proantocyanidines, acides phénoliques	Eau chaude 80–100°C	[201]
Tannins, acides phénoliques liés	NaOH (2 N–10 N)	[193, 202, 203]
Composés phénoliques, acides phénoliques	Ether de pétrole	[204]
Flavonols, acides phénoliques, acides hydroxycinnamique, coumarines, Flavonols, xanthones	Acétone/eau 10–90% (v/v)	[195, 200, 205, 206]
Flavonols, acides phénoliques, phénols simple, anthocyanines	n-Hexane, isoocétane, acétate d'éthyle	[207]
Polyphénols de feuilles d'olivier, oleuropéine and rutine	Acétone, éthanol et différentes formes	[195]

---

aqueuses (10–90%,v/v)

Flavonols, quercétine 3,4'-diglucoside et Methanol/water 70% v/v [192]  
quercétine 4'-monoglucoside.

---

Une hydrolyse alcaline séquentielle [208, 209] ainsi qu'un certain nombre de procédures enzymatiques pour une libération efficace du composé phénolique lié ont été décrites. L'alpha-amylase ou une combinaison d'alpha-amylase et de cellulase ont été utilisées pour libérer des acides phénoliques dans l'orge [210, 211] et l'utilisation de combinaisons d'enzymes commerciales telles que *Viscozyme L.*, *Ultraflo L.*, Termamyl et Lallzyme dans les céréales de l'orge [212] et l'enzyme de dégradation cellulaire dans le grain de seigle [213] ont été signalés.

La récupération des polyphénols à partir de matières végétales est également influencée par le temps d'extraction ainsi que d'autres facteurs mécaniques comme l'extraction par agitation, sonication, et micro-onde. Les durées d'extraction rapportées varient de 1 min [214] à 24 h [215, 216].

Des temps d'extraction plus longs augmentent le risque d'oxydation des composés phénoliques à moins que des agents réducteurs ne soient ajoutés au système de solvants [217]. En revanche, certains ont constaté qu'une extraction en deux étapes avec 70% (v / v) d'acétone, 1 min chacune à 10 000 tr / min en utilisant un homogénéisateur Polytron, était suffisante pour l'extraction des tanins des farines de canola du commerce [218, 184]. Une extraction supplémentaire (jusqu'à six étapes) n'a amélioré que marginalement le rendement de l'extraction d'autres composés phénoliques. Cependant, d'autres ont démontré que le temps d'extraction optimal requis pour les composés phénoliques des haricots secs est de 50 à 60 min [219]. L'extraction des polyphénols du matériel végétal peut également être influencée par le rapport solvant-échantillon (R). Naczka et Shahidi [217] et Naczka et al. [184] ont constaté que le changement de R de 1: 5 à 1:10 augmentait l'extraction des tanins condensés des farines de canola commerciales de 257,3 à 321,3 mg / 100 g de farine et les composés phénoliques totaux de 773,5 à 805,8 g / 100 g de farine lors de l'utilisation 70% d'acétone.

Dans la littérature, des chercheurs ont démontré que le rendement de la récupération des tanins des haricots secs était fortement influencé par les variations de la taille des particules de l'échantillon. Ils ont constaté que la quantité de tanins dosables à la vanilline diminuait d'environ 25 à 49%, la taille minimale étant ramenée de 820 à 250 µm

[219]. Récemment, il a été montré que l'extraction des composés phénoliques de l'aubergine était influencée par les paramètres de préparation des échantillons [183].

L'extraction des acides phénoliques libres et estérifiés des graines oléagineuses a été effectuée en utilisant un mélange de méthanol / acétone / eau (7: 7: 6, v / v / v) à température ambiante. Après cela, les composés phénoliques libres ont été extraits avec de l'éther diéthylique de l'extrait et l'extrait a ensuite été traité avec du NaOH 4M sous azote pour libérer des acides phénoliques estérifiés. L'hydrolysat a été acidifié et les acides phénoliques libérés ont été extraits avec de l'éther diéthylique [220]. L'échantillon restant, après extraction exhaustive avec un mélange de méthanol / acétone / eau, a été retraité avec du NaOH 4M sous azote pour libérer des acides phénoliques liés insolubles. L'hydrolyse alcaline peut entraîner une certaine dégradation des dérivés d'acide hydroxycinnamique [219], mais cela peut être évité par l'addition d'acide ascorbique à 1% et d'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) 10 mM [221]. Un rendement élevé d'extraction phénolique et un faible taux de fagopyrine phytotoxique ont été obtenus après macération de l'herbe dans 30% d'éthanol à 60°C pendant 2 h.

## 1.7 Méthodes d'analyses et de quantifications des composés phénoliques

### 1.7.1 Dosage des phénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu

La méthode de référence utilisée pour le dosage des phénols totaux est la méthode Folin-Ciocalteu basée sur la couleur produite lors de l'oxydation des phénols dans un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [222—230]. L'absorbance de la bande entre 725 et 750 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits de végétaux. La teneur en polyphénols totaux est établie par comparaison avec le signal d'absorbance obtenu pour un étalonnage externe utilisant l'acide gallique comme étalon.

Le test Folin-Ciocalteu est simple à utiliser et très sensible. Cependant, il n'est pas spécifique des polyphénols, étant interféré par les acides aminés tyrosines et tryptophane, les protéines, les sucres réducteurs, comme le glucose et le fructose, l'acide ascorbique, l'acide tartrique et les sulfites. De plus, le standard considéré ne représente pas la classe entière des phénols (étant donc une méthode semi-quantitative juste appliquée à des fins de comparaison).

Les changements climatiques et métaboliques avant la récolte des plantes ainsi que ceux induits par leurs traitements modifient davantage leurs teneurs en phénol. Cette variabilité dans la distribution quantitative des phénols couplée à la grande variation de la sensibilité relative des détecteurs limite souvent la capacité de mesurer plus qu'une gamme restreinte de phénols en une seule analyse. D'un point de vue pratique, il faut que les détails de l'échantillon soient entièrement spécifiés et caractérisés [231].

La disponibilité limitée d'étalons de référence appropriés pour la quantification est un problème qui a été surmonté, en partie, par la synthèse des composés pertinents [232—234]. En variante, les composés pertinents isolés par chromatographie à l'échelle préparative peuvent servir d'étalons de référence.

Dans de nombreux cas, la quantification est effectuée par référence à un ou plusieurs composés de référence choisis de manière appropriée. Par exemple, une substance non identifiée dans le jus d'ananas a été quantifiée [235] comme étant l'acide p-coumarique tandis que les glycosides de kaempférol et de quercétine ont été calculés comme les aglycones correspondants [236]. Les teneurs en acides phénoliques et en flavonoïdes des capitules (fleurs sans pédoncules regroupées sur un réceptacle, entourées de bractées qui caractérise la famille des *Asteraceae* comme la marguerite en est un exemple) ont été quantifiées par CLHP en utilisant la quercétine et la cynarine comme étalons internes [237]. La disponibilité et l'utilisation de matériaux de référence standard et de méthodes d'analyse certifiées amélioreront considérablement la confiance dans les données analytiques.

Les méthodes traditionnelles pour la détermination des composés phénoliques reposaient sur la mesure colorimétrique des phénols totaux en utilisant un certain nombre de réactifs de sélectivité variable. La diversité des composés phénoliques signifie que la sélection d'un réactif et / ou d'une longueur d'onde absorbante sera un compromis bien que ce soit moins un problème là où une seule classe de phénols prédomine. Par exemple, le test Davis [238, 239] est basé sur la réaction d'un alcali dilué avec des flavanones pour former les chalcones jaunes correspondantes qui sont mesurées à 470 nm. La concentration en 1,2-diphénols est déterminée [240] avec du molybdate par mesure à 350 nm tandis que le réactif de Folin-Ciocalteu est le réactif classique recommandé pour les phénols totaux [236, 241].

La couleur bleue formée après 15–60 min est mesurée à 725–735 nm [242] et les résultats sont exprimés en termes d'équivalents molaires d'un phénol courant, par exemple l'acide gallique [240] ou la quercétine [236]. Un inconvénient est l'interférence de substances réductrices telles que l'acide ascorbique. Tous les phénols absorbent le rayonnement ultraviolet, ce qui constitue la base d'une autre mesure des phénols totaux [243]. Cependant, toutes les mesures spectrophotométriques manquent de spécificité et donnent une surestimation du contenu «phénolique». La spécificité peut être améliorée par spectrométrie dérivée ou par séparation préliminaire.

Par exemple, la mesure basée sur la deuxième dérivée de l'absorbance à 278 nm [244] a fourni une méthode rapide et directe pour la détermination des phénols totaux en utilisant le catéchol comme étalon de référence. Des méthodes de CCM ont été conçues [236, 245] et exploitées [246, 247] pour la séparation / nettoyage préliminaire d'extraits d'échantillons. Ils sont généralement semi-quantitatifs au mieux et, de manière quelque peu surprenante, la CCM à haute performance [248] n'a pas été largement utilisée pour les phénols.

### 1.7.2. Analyse et dosage par les méthodes chromatographiques

De nombreux travaux ont été menés pour optimiser le procédé d'extraction des phénols, en particulier les solvants pour améliorer l'extraction des phénols à partir de substances naturelles [249, 250]. Des articles de synthèse ont été publiés sur les propriétés chimiques et structurales de nombreuses familles phénoliques, en les corrélant avec leurs propriétés biologiques et la manière dont ils sont exprimés après consommation dans une base quotidienne de fruits, légumes, boissons, vin rouge et même chocolat [251–256].

Plusieurs techniques analytiques ont été proposées pour la quantification des acides phénoliques, y compris la chromatographie sur couche mince, la chromatographie gazeuse-liquide, la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse et les méthodes d'électrophorèse capillaire.

Cependant, la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est aujourd'hui la méthode de quantification la plus largement utilisée [257–273]. Les méthodes de chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et GC-MS ont été utilisées pour identifier et quantifier les terpènes et les acides phénoliques dans les herbes [274], le riz

[275], le jus [276], dans le romarin [277, 278], le miel [279, 280], les vins [281], l'origan [282, 283], les plantes médicinales [284], l'huile d'olive et pruneau [285, 286].

La chromatographie en phase gazeuse (GC) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ont été largement utilisées pour la séparation et la quantification des composés phénoliques [287—293]. L'élucidation de la structure est souvent réalisée en utilisant une combinaison de GC ou HPLC avec une analyse par spectrométrie de masse, ainsi que d'autres techniques pertinentes [294, 295].

Dans la littérature, les acides phénoliques libres et totaux sont identifiés et quantifiés par une méthode de chromatographie liquide à haute performance dans les aliments d'origine végétale [296], dans la pomme et la poire [297], la bière [298], le thé et le maté [299], les pommes de terre [300, 301], son de blé [302], plantes aromatiques grecques [303], espèces de champignons [304], jus [305], dans le thé vert, Oolong, noir et Pu-erh [306], dans les haricots [307], baies, fruits et boissons [308, 309]. En outre, des méthodes de spectroscopie infrarouge-moyen (FT-MIR et ATR-FT-MIR) ont été utilisées pour caractériser les composés phénoliques dans le raisin rouge et les vins [310—312].

### 1.7.3. Analyse et dosage par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Le profil spectral de l'infrarouge moyen (MIR) des composés phénoliques n'a été déterminé que dans quelques études. Dans une étude qualitative, l'acide rosmarinique a été analysé dans des suspensions de culture de *Lavandula officinalis* en utilisant la spectroscopie MIR comme nouvel outil [313].

Concernant la quantification des polyphénols totaux et des acides phénoliques par les méthodes FT-NIR, FT-NIR-PLS et UHPLC, de nombreux travaux ont été réalisés pour la détermination de la teneur totale en polyphénols du thé vert à l'aide de la spectroscopie FT-NIR en utilisant différents algorithmes PLS [314], la quantification des acides phénoliques dans des solutions d'extrait de *Radix Salvia Miltorrhiza* par spectroscopie FT-NIR [315], la surveillance en temps réel de la teneur totale en polyphénols du thé à l'aide de l'algorithme Si-PLS [316], la détermination quantitative des composés phénoliques par UHPLC-UV-MS et l'utilisation de l'analyse discriminante partielle des moindres carrés pour différencier les chimio-types de capitules de camomille/chrysanthème [317].

De la même manière, l'icariine (glycoside de flavonol) a été identifiée dans *Herba Epimedii* (médecine traditionnelle chinoise) en comparant les spectres MIR. La valeur de corrélation, représentant la similitude de deux spectres d'un échantillon d'herbes et du composé phénolique standard pourrait être utilisée comme critère de sélection pour les plantes [318].

Dans une étude impliquant cinq produits naturels utilisés dans la cicatrisation des plaies pour prévenir les infections, l'analyse IRTF a révélé la présence de composés phénoliques dans les extraits alcooliques [319]. Les données spectrales de spectroscopie infrarouge à réflectance totale atténuée-transformée de Fourier (ATR-IRTF) et de microspectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIRM) ont permis l'évaluation simultanée de l'effet protecteur de différents polyphénols, les résultats obtenus ont été comparés aux techniques standard de peroxydation lipidique [320].

Une étude quantitative utilisant la spectroscopie MIR pour déterminer la teneur en kéraucyanine (anthocyane) dans les cerises douces a été découverte. La bande comprise entre 1640 et 1630  $\text{cm}^{-1}$  a été utilisée pour la quantification de flavonoïde [321].

Les techniques spectroscopiques NIR et MIR ont été largement utilisés pour l'analyse de routine des composés phénoliques dans les industries du raisin et du vin. Les données spectrales MIR et ATR avec l'application de techniques de chimiométrie ont été utilisées pour étudier les composés phénoliques et pour élucider les caractéristiques de composition particulières associées aux composés phénoliques dans les raisins et les échantillons de vin qui ne sont pas facilement détectés par l'analyse chimique ciblée traditionnelle [322].

La prédiction des composés phénoliques dans le miel a été réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier avec réflectance totale atténuée (IRTF-ATR) et spectroscopie Raman associée à une régression partielle des moindres carrés (PLS-R). Les résultats des données combinées, Raman et IRTF, ont montré une capacité de prédiction satisfaisante [323].

La régression PLS pour le modèle linéaire s'applique au domaine d'application où il y a peu d'observations sur des variables fortement corrélées et en très grand nombre; c'est le cas problématique de la régression linéaire, où les méthodes usuelles ne fonctionnent pas (étant extrêmement petites on ne peut pas tendre vers l'infini) [324—326].

## 1.8 Abondance des acides phénoliques dans les plantes et végétaux

Les acides phénoliques trouvés dans les plantes et végétaux sont présents en quantités variables et ceux qui ont des propriétés thérapeutiques ont une valeur ajoutée plus élevée sur le marché. Un aperçu des propriétés thérapeutiques et chimiques générales des acides phénoliques a déjà été abordé, et les composés les plus importants sont décrits plus en détail dans ce qui suit, avec leurs applications actuelles et leurs ressources végétales (tableau 1.7).

Tableau 1.7 : Travaux effectués sur les phénols les plus répandues dans la nature<sup>(\*)</sup>.

<b>phénols</b>	<b>Plantes riches en phénols correspondants</b>
<b>L'acide <i>p</i>-coumarique ou acide para-hydroxycinnamique</b>	<p>L'acide para-coumarique se trouve dans le <b>millet</b> (acide phénolique liée majoritaire) ; dans l'extrait phénolique d'<b>éleusine corana</b> (finger millet) (acide phénolique majeur) ; Sorgho (l'acide <i>p</i>-coumarique existe sous forme libre et liée) ; dans les fractions de fraisage de l'avoine ; le riz sauvage (existe sous forme soluble et insoluble) ; le <b>seigle</b> (3ème majoritaire) ; Jus de myrtille, mûres, graines de cassis ;</p> <p>Dans les <b>canneberges</b> (acide phénolique liée et libre majeur) ; <b>Cerise</b> (composé Majoritaire) ; Oignons rouge (pelure, flocon, écaille de chair) ;</p> <p>Pomme de terre (pelure), pomme de terre sauvage violette et pomme de terre rouge ; Betterave rouge ; Extrait méthanolique des feuilles d'épinard ;</p> <p>Soja, canola ; <b>Graines de lin</b> (majoritaire) ; <b>Graine de coton</b> (2ème majoritaire) ; <b>Sésame</b> (2ème majoritaire) ; <b>Cacahuète</b> (composé phénolique majoritaire avec 146 mg/100g);</p> <p>Extrait d'amande ; <b>noyau de noisette, feuilles de noisette</b> (abondant dans les deux) ; Noix (dans le péricarpe) ; Safran des indes (Turmeric).</p>
La coumarine (1-benzopyrane-2-one)	<p>La coumarine se retrouve naturellement dans de nombreuses plantes, notamment en forte concentration dans la <b>fève tonka, fruit du gaïac de Cayenne (Dipteryx odorata)</b> de la famille des Fabacées, très riche en coumarine (de 1 à 3,5 %). À maturité, la fève libère des arômes de vanille, de foin et d'amande. La <b>vanille Pompona</b> a pour principale molécule aromatique la coumarine, lui conférant des notes de réglisse et de feuille de tabac. Présente dans le céleri (<i>Apium graveolens</i>), le panais (<i>Pastinaca sativa</i>), la lavande vraie (<i>Lavandula angustifolia</i>), la feuille de maïs, la <b>cannelle de Chine (Cinnamomum aromaticum)</b> riche en coumarine (0,45 %) et en</p>

---

<b>Acide trans-cinnamique (acide (E)-3-phényl-prop-2-énoïque)</b>	<p>aldéhyde cinnamique (2,56 %) et contient des traces d'eugénol alors que l'inverse est vrai de la <b>cannelle de Ceylan</b> (<i>Cinnamomum verum</i>), l'aspérule odorante, Galium odoratum ou gaillet odorant (de la famille des Rubiacées), est peu odorante à l'état frais mais prend au séchage une agréable senteur de foin, due au développement de la coumarine (la plante sèche comporte de 1,0 à 1,3 % de coumarine).</p>
	<p>Il est obtenu à partir de <b>l'extrait de cannelle</b>, à laquelle son ester éthylique donne son odeur caractéristique, ou de certains arbustes balsamiques.</p> <p>La forme « Trans » est obtenue à partir de <b>l'extrait de la cannelle de chine</b>, à laquelle son ester éthylique donne son odeur caractéristique;</p> <p>Il est présents dans les <b>huiles essentielles de basilic</b>, de la <b>cannelle de chine</b>, de Melaleuca bracteata, d'Alpinia galanga., ou de certains arbustes balsamiques. Il forme aussi une partie importante du <b>baume de Tolu</b> et du <b>baume du Pérou</b>. Ses esters sont présents dans le styrax.</p> <p>Il est aussi présent dans le storax asiatique et américain et les feuilles de cacao. Également présent dans les fraises, la bière, le cognac, le Carambola (<i>Averrhoa carambola.L</i>).</p> <p>La forme « Cis » est présente dans l'huile d'Alpinia malacensis, le sorgho (sous forme libre et/ou liée uniquement dans certaines variétés) ; Canneberge (sous forme libre et liée) ; Céleri et endive ; Canola, colza ;</p> <p><b>Pignon de pin</b> (12.2 mg/100g).</p>

---

<p><b>Acide Hydroxybenzoïque (acide hydroxybenzoïque)</b></p>	<p>p- 4-</p>	<p>Présent dans le jus de pomme, la groseille noir, le fromage, la bière, l'eau-de-vie des raisins, le rhum, la cerise, les vins, le cacao, l'arachide, le soja et le moût. Il est aussi présent dans les <b>grains d'orge</b> (composé majoritaire en acide phénolique) ; dans la fraction de fibre d'aleurone de sarrasin (sous forme liée) ; le sorgho (sous forme libre et liée) ; dans les fractions de fraisage de l'avoine ; graines d'orge (acide phénolique liée majeur dans <b>l'extrait d'orge</b> obtenue par traitement séquentielle d'acide, d'alpha-amylase et de cellulase) ; riz sauvage (sous forme soluble et insoluble) et dans le seigle (en petite quantités) ; Egalement présent dans le jus de myrtille, graines de cassis ; dans les canneberges ; <b>Carottes</b> (pelures) (composé majoritaire) ; oignons rouge (pelure, flocon, écaille de chair) ; betterave rouge ; dans le soja, canola ; graines de lin (minoritaire) ; <b>colza</b> (teneur bien plus supérieur que dans le soja) ; huile d'olive extra vierge ; coque d'amande et dans les noix (dans le péricarpe).</p>
<p>Carvacrol</p>		<p>Le carvacrol se trouve dans les huiles essentielles obtenues notamment à partir de l'origan, du thym, du cresson alénois ou de la monarde. Chez le <b>thym</b>, l'huile essentielle contient, selon les sous-espèces, de 5 % à 75 % de carvacrol, tandis que les sous-espèces de sarriette (Satureja) en contiennent de 1 % à 45 %. Dans le genre <b>origan, la marjolaine</b> et le <b>dictame de Crète</b>, ils sont riches en carvacrol, respectivement à 50 % et 60 à 80 %.</p>
<p><b>Thymol</b></p>		<p>Le thymol est un phénol contenu dans <b>l'huile de thym</b> et dans les huiles essentielles (volatiles) de plusieurs autres plantes, on retrouve le Thymol dans les huiles essentielles suivantes : <b>Huile essentielle de Thym à Thymol - <i>Thymus zygis</i></b> - 37 à 55% Huile essentielle de Thym à feuilles de Sarriette -<i>Thymus satureioides</i>- &lt; 12% Huile essentielle d'Origan Compact - <i>Origanum compactum</i> - 8 à 28% Huile essentielle de Sarriette des Montagnes - <i>Satureja montana</i> - &lt; 15%</p>
<p><b>Eugénol</b></p>		<p>L'Eugénol se trouve dans les huiles essentielles du Giroflier (<b>Clou de Girofle</b>) (<i>Eugenia caryophyllus</i>), et de la <b>Cannelle de Ceylan</b> (<i>Cinnamomum verum</i>).</p>
<p>Australol (p-cumenol ou Isopropylphénol)</p>	<p>4-</p>	<p>Le p-isopropylphénol se trouve dans <b>l'huile de cumin</b> (<i>Cuminum Cyminum</i>) et la plupart des espèces <b>d'eucalyptus</b> (<i>Eucalyptus sp</i>). Il appartient à la famille des Cumènes. Ce sont des composés aromatiques contenant un fragment prop-2-ylbenzène.</p>

Chavicol	Il est naturellement présent dans <b>l'huile de feuilles de bétel</b> dont il constitue 30 à 40 % et est responsable de l'odeur. Il est également présent dans l'huile essentielle de « <b>bay Saint Thomas</b> » ( <i>Pimenta racemosa</i> ) avec l'estragol. Son odeur fait qu'il est utilisé en parfumerie.
Estragol (MÉTHYLCHAVICOL)	L'estragol est un composé présent dans de nombreuses huiles essentielles et notamment <b>l'huile essentielle d'estragon</b> dont il constitue 60 à 75 %. On le retrouve aussi dans <b>l'huile essentielle de basilic</b> (23–88 %), l'huile essentielle de pin, la térébenthine, les huiles essentielles de fenouil, d'anis (2 %), d'anis étoilé, de Bay Saint Thomas ( <i>Pimenta racemosa</i> ), de piment de Jamaïque, de noix de muscade, de citronnelle et de <i>Syzygium anisatum</i> . On le trouve également dans les feuilles de thé.
Safrole (shikimol)	Le safrole est naturellement présent en petites quantités dans de nombreux végétaux, desquels il prévient l'attaque de certains insectes. Les principales plantes utilisées pour son extraction sont le <i>Sassafras albidum</i> , un arbre originaire de l'est de l'Amérique du Nord, et <i>Ocotea pretiosa</i> , une plante poussant au Brésil. On en tire l'huile essentielle, principalement composée de safrole qui est distillée. On le retrouve également dans certaines épices comme la cannelle, la noix de muscade et le poivre noir, de même que dans certaines fines herbes tel que le basilic.
Pyrocatéchol	Les catéchols sont des motifs que l'on retrouve dans certaines molécules naturelles synthétisées par les organismes vivants. Par exemple, certaines protéines aux propriétés adhésives présentes dans les moules marines sont très riches en motifs catéchols et leur permet d'adhérer sur un grand nombre de support.
L'aldéhyde cinnamique, cinnamaldéhyde (trans- cinnamaldéhyde)	Il est le composant principal (90 %) de <b>l'essence de cannelle</b> et se trouve à l'état naturel dans le tronc du <b>cannelier de Ceylan</b> , du <b>camphrier</b> et du <b>cannelier de Chine (Casse)</b> .
<b>Acide Vanillique</b> <b>(Acide 4-Hydroxy-3- méthoxybenzoïque)</b>	Présent dans le blé, graines d'orge ; dans la fraction de fibre d'aleurone de sarrasin (sous forme liée), <b>extrait phénolique d'éleusine corana</b> (finger millet) (acide phénolique majeur) et dans le sorgho (sous forme libre et/ou liée uniquement dans certaines variétés) ; Dans les fractions de fraisure d'avoine ; le riz sauvage (sous forme soluble et insoluble) ; le seigle (en petites quantités) ; dans le jus de myrtille ; la <b>canneberge</b> (acide phénolique majeur) ; dans les oignons rouges (pelure, flocon, écaille de chair) ; betterave rouge ; dans le soja et graines de lin (minoritaire) ; dans l'huile d'olive extra vierge, les fraises ; l'huile d'argan ; dans <b>l'extrait d'amande</b> (majoritaire) et coque d'amande ;

	<p>dans l'extrait de noisette, les noix (péricarpe) ; dans les pignons de pin et le safran des indes (Turmeric).</p>
La vanilline	<p>La vanilline est, parmi les multiples composants de l'arôme naturel de la <b>vanille</b>, le plus important et le plus caractéristique. Elle représente 0,75 % à 2 % de la masse de la gousse. Une gousse pesant autour des trois grammes n'en contient donc que 22 à 60 mg.</p>
<b>Acide salicylique</b>	<p>L'acide salicylique est naturellement synthétisé par certains végétaux (comme la reine-des-prés ou le saule), on le retrouve notamment dans des fruits, sous forme estérifiée de salicylate de méthyle. Il est aussi présent dans les graines d'orge et de Canola.</p> <p>Des niveaux mesurables d'acide salicylique ont été trouvés dans les fruits, les légumes, les herbes, les épices, les noix et les thés ; Les avocats (29.72mg/kg), les betteraves (26.93mg/kg), les petits pois vert (25.52mg/kg), pomme de terres (sweet yellow) (21.15mg/kg), les dattes (36.90mg/kg), les olives (26.75mg/kg), poivre noir en poudre (45.72mg/kg) ; <b>cannelle en poudre</b> (57.24mg/kg), <b>Coriandre en poudre</b> 207.18mg/kg, <b>Cumin en poudre</b> (604.97mg/kg), Turmeric en poudre (38.83mg/kg), <b>extrait de graines de vanille</b> (130.26mg/kg), Gingembre frais (31.57mg/kg), Ciboulette fraîche (20.16mg/kg), l'ail frais (17.05mg/kg), amande fraîche (47.09mg/kg), graines de citrouille fraîches (17.58mg/kg).</p> <p>L'acide salicylique n'a pas été détecté dans les huiles, les sucres et les céréales. La teneur totale en acide salicylique variait de 1,29 mg / kg (bulbe de fenouil) à 86,18 mg / kg (<b>citrouille noire</b>) dans les légumes; 2,13 mg / kg (oranges de nombril) à 36,9 mg / kg (dates de séchage) dans les fruits; 3,24 mg / kg (feuilles de basilic) à 604,97 mg / kg (<b>cumin moulu</b>) dans les herbes et les épices et de 2,04 mg / kg (café instantané) à 51,48 mg / kg (<b>chocolat</b>) dans les boissons analysées.</p> <p>La teneur en acide salicylique dans les légumes varie de 0,05 mg / portion (céleri) à 6 mg / portion (<b>citrouille à l'ossature</b>); les fruits varient de 0,04 mg / portion (citron) à 3,54 mg / portion (<b>dattes de séchage</b>); les herbes et les épices vont de 0,01 mg / portion (gingembre) à 1,21 mg / portion (<b>cumin</b>); et les boissons vont de 0,51 mg / portion (café) à 1,18 mg / portion (<b>thé à la camomille</b>) ;</p> <p>La teneur totale en acide salicylique des tomates cerises était de 7 mg / kg par rapport à une teneur en acide salicylique sous forme libre de 0,3 mg / kg. En revanche, l'acide salicylique sous forme liée n'a pas été détectée chez les pommes granny smith et</p>

	la ciboulette dans laquelle la teneur totale en acide salicylique était respectivement de 0,9 mg/kg et 0,8 mg/kg. <b>Remarque :</b> Les concentrations en acide salicylique dans les épices peuvent différer; par exemple, le <b>cumin</b> provenant de deux sources différentes contenait 1629 mg / 100 g et 980 mg / 100 g. Cependant, les différences dans certains cas peuvent être attribuées à la méthode analytique utilisée pour la détection de l'acide salicylique; par exemple, les concentrations totales de niveaux de l'acide salicylique dans les <b>myrtilles</b> vont de 27,6 mg / kg à 0,57 mg / kg lorsque l'CLHP a été utilisée.																								
Aloe emodin	L'aloë emodin se trouve dans le gel (se trouve au cœur de la feuille), la sève ou les feuilles de l' <b>Aloe vera</b> , l' <b>aloès socotrine</b> , l' <b>aloès de la Barbade</b> et les <b>aloès de Zanzibar</b> , l' <b>écorce de Frangula</b> ( <i>Rhamnus frangula</i> ) et <b>Cascara Sagrada</b> ( <i>Rhamnus purshiana</i> ), les <b>feuilles de Senna</b> ( <i>Cassia angustifolia</i> ), Et le <b>rhizome de Rhubarbe</b> ( <i>Rheum rhaponticum</i> ).																								
La curcumine	La curcumine ou diféruoyl-méthane est le pigment principal du <b>curcuma</b> ( <i>Curcuma longa</i> ), aussi appelé <b>safran des Indes</b> . C'est un pigment polyphénolique (curcumoïde) qui donne une couleur jaune (c'est le colorant alimentaire E100).																								
La quercétine ou quercétol	Le quercétol est le plus actif des flavonoïdes et de nombreuses plantes médicinales doivent leur efficacité à leur fort taux en quercétol. Les études in vitro et in vivo ont montré que c'est un excellent antioxydant. La quantité de quercétol trouvée varie considérablement suivant la variété cultivée, les conditions de croissance, l'époque de la récolte. Voici quelques teneurs moyennes :																								
	<table border="1"> <tr> <td><b>Câpre</b></td> <td><i>Capparis spinosa</i></td> <td>1 808-328 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Livèche</b></td> <td><i>Levisticum officinale</i></td> <td>1 700 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Piment fort, jaune, cru</b></td> <td><i>Capsicum</i></td> <td>506 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Sureau noir</b></td> <td><i>Sambucus nigra</i></td> <td>420 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Chocolat, noir</b></td> <td><i>Theobroma cacao</i></td> <td>250 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Oignon cru, rouge</b></td> <td><i>Allium cepa</i> var. <i>cepa</i></td> <td>199 - 12,9 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Myrtille sauvage</b></td> <td><i>Vaccinium myrtillus</i></td> <td>177 - 12,7 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> <tr> <td><b>Cassis</b></td> <td><i>Ribes nigrum</i></td> <td>57 mg·kg<sup>-1</sup></td> </tr> </table>	<b>Câpre</b>	<i>Capparis spinosa</i>	1 808-328 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Livèche</b>	<i>Levisticum officinale</i>	1 700 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Piment fort, jaune, cru</b>	<i>Capsicum</i>	506 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Sureau noir</b>	<i>Sambucus nigra</i>	420 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Chocolat, noir</b>	<i>Theobroma cacao</i>	250 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Oignon cru, rouge</b>	<i>Allium cepa</i> var. <i>cepa</i>	199 - 12,9 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Myrtille sauvage</b>	<i>Vaccinium myrtillus</i>	177 - 12,7 mg·kg <sup>-1</sup>	<b>Cassis</b>	<i>Ribes nigrum</i>	57 mg·kg <sup>-1</sup>
<b>Câpre</b>	<i>Capparis spinosa</i>	1 808-328 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Livèche</b>	<i>Levisticum officinale</i>	1 700 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Piment fort, jaune, cru</b>	<i>Capsicum</i>	506 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Sureau noir</b>	<i>Sambucus nigra</i>	420 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Chocolat, noir</b>	<i>Theobroma cacao</i>	250 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Oignon cru, rouge</b>	<i>Allium cepa</i> var. <i>cepa</i>	199 - 12,9 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Myrtille sauvage</b>	<i>Vaccinium myrtillus</i>	177 - 12,7 mg·kg <sup>-1</sup>																							
<b>Cassis</b>	<i>Ribes nigrum</i>	57 mg·kg <sup>-1</sup>																							

Brocoli cru	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	32 mg·kg <sup>-1</sup>
Thé vert	<i>Camellia sinensis</i>	27 mg·kg <sup>-1</sup>
Cerise	<i>Prunus cerasus</i>	12 mg·kg <sup>-1</sup>
Vin rouge	<i>Vitis vinifera</i>	8,3 mg·l <sup>-1</sup>
Pomme crue (avec sa peau)	<i>Malus domestica</i>	1,3 mg·kg <sup>-1</sup>

L'acide sinapique et ses esters (sinapoylglucose, sinapoylmalate et plus rarement synapoylcholine) se trouvent dans une large variété de plantes, en grande quantité dans les plantes oléagineuses (et en général dans les Brassicaceae/Crucifères), et tout particulièrement dans les **graines de colza**. La teneur en acides phénoliques est d'ailleurs significativement plus grande dans le colza que dans les autres cultures oléagineuses (ex: taux dans l'arachide : 636 mg·kg<sup>-1</sup>, **colza** : 6 399 mg·kg<sup>-1</sup>), la plus grosse part (entre 70 et 85 %) venant de l'acide sinapique et de ses esters.

L'acide sinapique (ou parfois acide sinapinique) ou acide 3,5-diméthoxy-4-hydroxycinnamique

Dans les plantes, l'acide sinapique est biosynthétisé à partir de l'acide cinnamique, lui-même synthétisé à partir du phénylalanine. L'acide cinnamique subit par la suite des méthylation et hydroxylations donnant l'acide para-coumarique (qui peut aussi être obtenu à partir de la tyrosine) l'acide caféique, l'acide férulique, l'acide 5-hydroxyférulique. Ce dernier est finalement transformé en l'acide sinapique par méthylation d'une de ses fonctions hydroxyles (transformation en méthoxy) grâce à l'enzyme O-méthyltransférase (OMT).

Largement répandu dans les plantes soit sous forme libre soit comme composant des gallotanins. On le trouve à l'état naturel dans des galles de chênes (ou noix de galle), de sumac, d'hamamélis, les feuilles de thé, l'écorce de chêne, entre autres plantes.

**Acide gallique**

Forme consommée	Nom scientifique de la plante	Teneur
<b>Châtaigne crue</b>	<i>Castanea sativa</i>	479,78 mg/100 g
<b>Clous de girofle</b>	<i>Syzygium aromaticum</i>	458,19 mg/100 g
Endive verte, crue	<i>Cichorium intybus var. foliosum</i>	25,84 mg/100 g
Liqueur de noix	<i>Juglans regia</i>	15,15 mg/100ml
Endive rouge, crue	<i>Cichorium</i>	14,56 mg/100 g

		<i>intybus var. foliosum</i>	
Sauge officinale séchée		<i>Salvia officinalis</i>	5,25 mg/100 g
Origan séché		<i>Origanum vulgare</i>	5,15 mg/100 g
Mûre (de ronce)		<i>Rubus</i>	4,67 mg/100 g
Thé noir, infusion		<i>Camellia sinensis</i>	4,63 mg/100ml
Vin rouge		<i>Vitis vinifera</i>	3,59 mg/100ml
Vinaigre		<i>Vitis vinifera</i>	2,59 mg/100ml
Datte		<i>Phoenix dactylifera</i>	1,56 mg/100 g
Vin rosé		<i>Vitis vinifera</i>	1,04 mg/100ml
Banane		<i>Musa</i>	1,00 mg/100 g
Soja, germes		<i>Glycine max</i>	0,70 mg/100 g
Chou-fleur, cru		<i>Brassica oleracea var. botrytis</i>	0,69 mg/100 g
Coing, confiture		<i>Cydonia oblonga</i>	0,67 mg/100 g
Thé oolong, infusion		<i>Camellia sinensis</i>	0,68 mg/100ml
Pomme, pur jus		<i>Malus pumila</i>	0,66 mg/100ml
Thé vert, infusion		<i>Camellia sinensis</i>	0,49 mg/100ml
Grenade, pur jus		<i>Punica granatum</i>	0,45 mg/100ml

L'acide protocatéchique On le trouve dans le **thé vert**, dans l'açaï et dans les **racines de gentiane**.

Hydroquinone Elle est présente naturellement dans certaines bactéries et plantes, et chez quelques animaux. La **Busserole** produit un actif clarifiant naturel, l'**arbutine**, en concentration importante. Cette substance, dérivé naturel de l'hydroquinone possède une efficacité supérieure à cette dernière.

*p*-Crésol Le *p*-crésol est un métabolite du menthofuran, l'un des métabolites de R - (+) - pulégone, qui se trouve dans les extraits des plantes ***Mentha pulegium*** et ***Hedeoma pulegioides***, communément appelées huile de pennyroyal et **thé de pennyroyal**. Ces extraits sont populaires comme agents thérapeutiques à base de plantes non conventionnels et sont appliqués comme abortifs, diaphorétiques, emménagogues et psychédéliques. L'huile de Pennyroyal est largement utilisée pour son agréable odeur de menthe dans l'industrie aromatique.

Les cristaux se retrouvent dans de nombreux aliments et dans la fumée du **bois** et du **tabac**, du pétrole brut, du **goudron de**

<i>m</i> -Crésol	<b>houille</b> et des mélanges marron tels que la créosote et les acides cresyliques, qui sont des conservateurs de bois. Les petits organismes dans le sol et l'eau produisent des crésols lorsqu'ils décomposent des matériaux dans l'environnement.
Acide rosmarinique	Acide phénolique dérivé de l'acide cinnamique (polyphénol). Il existe sous forme d'isomères Cis et Trans (l'isomère Trans de l'acide rosmarinique est l'isomère naturel, exposé à la lumière du jour, il se transforme en isomère Cis). Source végétale : <b>Romarin, mélisse, sauges, basilic, menthes, périlla, brunelle, orthosiphon, lavandes, consoude, sarriette, marrube, hysope, monarde</b> , et de nombreuses plantes de la famille des Labiées (surtout), de <b>Boraginaceae</b> et d' <b>Apiaceae</b> .
Carnosol	Diterpène phénolique tricyclique (proche de l'acide carnosique). Source végétale : Romarin, sauge officinale, sauge sclarée.
Anéthol ( <i>p</i> -propénylanisol, isoestragol, camphre d'anis, ou huile d'anis)	Il peut être obtenu par extraction de l' <b>anis (vert ou étoilé)</b> et du <b>térébinthe de pin</b> . L'anéthol pur a été obtenu pour la première fois par le chimiste Auguste Cahours par distillation de l'essence d'anis. Il donne son goût à l' <b>anis</b> et au <b>fenouil</b> . L'anéthol a un goût clairement sucré et est treize fois plus sucré que le sucre. Il n'a pas de lien avec l'acide glycyrrhizique, le composant qui adoucit la réglisse.
Acide férulique	L'acide férulique, comme l'acide dihydroférulique, est un composé de la lignocellulose, qui sert à faire le lien entre la lignine et les polysaccharides, ce qui confère leur solidité aux parois des cellules végétales. Il est présent dans de nombreuses graines comme le riz, le blé, l'avoine mais aussi dans le café, les pommes, les artichauts, les cacahouètes, les oranges et les ananas. Il est d'ailleurs possible d'extraire l'acide férulique du <b>son de blé</b> ou de <b>maïs</b> en utilisant des bases concentrées (soude, potasse). La biosynthèse de l'acide férulique se fait par méthylation de la fonction hydroxy méta de l'acide caféique grâce à une enzyme spécifique, l'acide caféique-O-méthyl transférase.
Acide chlorogénique	L'acide chlorogénique (5-ACQ, <i>stricto sensu</i> ) est l'un des principaux composés phénoliques du <b>café</b> , également trouvé chez certaines plantes où on peut l'isoler dans les feuilles ou fruits. Dans notre alimentation, le café est la source principale d'acide chlorogénique. Il représente de 5 à 10 % du poids des <b>grains de café verts</b> . Un litre de café filtre fournit de 500 à 800 mg d'acide chlorogénique, correspondant à 250-400 mg d'acide caféique. On le trouve aussi en quantité importante dans l' <b>artichaut</b> et

les **endives** mais quand même en quantité moindre que dans les grains de café non torréfiés (5-10 % soit 5000 à 10 000 mg·100 g<sup>-1</sup>, non répertoriés dans le tableau). Une teneur élevée (1 245 mg·100 g<sup>-1</sup>) se trouve dans les **fleurs de chèvrefeuille du Japon (*Lonicera japonica*)** qui une fois séchées sont utilisées dans la médecine traditionnelle chinoise.

<b>Plantes alimentaires riches en acide chlorogénique (acide 5-caféylquinique) en mg.100 g<sup>-1</sup> de matière sèche</b>		
<b>Forme consommée</b>	<b>Nom botanique de la plante</b>	<b>Teneur</b>
<b>Graines de tournesol, farine</b>	<i>Helianthus annuus</i>	454,48 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Artichaut cru</b>	<i>Cynara scolymus</i>	202,23 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Grande bardane, crue</b>	<i>Arctium lappa</i>	126,76 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Café décaféiné</b>	<i>Coffea sp</i>	116,85 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Endive, verte, crue</b>	<i>Cichorium intybus L. var. foliosum</i>	108,88 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Café Robusta, filtre</b>	<i>Coffea canephora</i>	75,80 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Nèfle du Japon</b>	<i>Eriobotrya japonica</i>	54,75 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Café Arabica, filtre</b>	<i>Coffea arabica</i>	43,09 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Pruneau</b>	<i>Prunus domestica</i>	38,79 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Menthe douce, séchée</b>	<i>Mentha spicata</i>	31,00 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Pomme de terre, crue</b>	<i>Solanum tuberosum</i>	26,73 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Cidre, pomme</b>	<i>Malus pumila</i>	21,45 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Pur jus de pruneau</b>	<i>Prunus domestica</i>	20,35 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Carotte crue</b>	<i>Daucus carota spp sativus</i>	8,88 mg·100g <sup>-1</sup>
<b>Pur jus de pomme</b>	<i>Malus pumila</i>	7,01 mg·100ml <sup>-1</sup>
<b>Thé vert, infusion</b>	<i>Camellia sinensis</i>	2,30 mg·100ml <sup>-1</sup>

Le phloroglucinol ou benzène-1, 3, 5-triol	Le phloroglucinol a été isolé originellement à partir d'écorce d'arbres fruitiers, il apparaît naturellement dans certaines plantes. Par exemple, lui et de ses dérivés dont des acyles sont présents dans les frondes de <i>Dryopteris arguta</i> .
L'acide pentanoïque, ou acide méthyléthylacétique ou acide valérique	Il se trouve naturellement dans la <b>plante florale vivace valériane (<i>Valeriana officinalis</i>)</b> , d'où elle tire son nom. Son utilisation principale est dans la synthèse de ses esters. Les esters volatils de l'acide valérique ont tendance à avoir des odeurs agréables et sont utilisés dans les parfums et les cosmétiques. Le valérate d'éthyle et le valérate de pentyle sont utilisés comme additifs alimentaires en raison de leurs arômes fruités.

(\*) Le tableau a été établi en utilisant les références qui suivent [327– 434]

## 1.9 Travaux effectués sur les acides phénoliques

Différents travaux sur les acides phénoliques ont été réalisés sur certains extraits des feuilles; des écores de troncs et de racines, les résultats sont repris ci-dessous. Les polyphénols étudiés appartiennent à plusieurs groupes notamment: flavane (catéchine) et flavonols (quercétine, rutine), dérivés de l'acide cinnamique (acide caféique) et dérivés de l'acide benzoïque (acide gallique).

### 1.9.1 Acide férulique

L'acide férulique est un constituant végétal omniprésent qui provient du métabolisme de la phénylalanine et de la tyrosine. Il se produit principalement dans les graines et les feuilles à la fois sous sa forme libre et lié de manière covalente à la lignine et à d'autres biopolymères. Il est présent dans de nombreuses graines comme le riz, le blé, l'avoine mais aussi dans le café, les pommes, les artichauts, les cacahouètes, les oranges et les ananas (tableau 1.7). En raison de son noyau phénolique et d'une conjugaison de chaîne latérale étendue, il forme facilement un radical phénoxy stabilisé par résonance, ce qui explique son potentiel antioxydant puissant. Il est principalement conjugué avec des mono- et des oligosaccharides, des polyamines, des lipides et des polysaccharides et se produit rarement à l'état libre chez les plantes.

Il a été rapporté que l'acide férulique a de nombreuses fonctions physiologiques, y compris des activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-thrombotiques et anticancéreuses [327, 328]. Il protège également contre les maladies coronariennes, abaisse le cholestérol et augmente la viabilité des spermatozoïdes. En plus

de cela, des preuves provisoires suggèrent que l'acide férulique peut avoir d'autres avantages pour la santé dans le corps humain, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour confirmation. Ces avantages potentiels pour la santé comprennent la prévention de la dégénérescence osseuse, le cancer, les symptômes de bouffées de chaleur chez les femmes ménopausées, la protection de la peau contre les dommages ultraviolets (UV), la réduction des taux sanguins de cholestérol LDL (un type de cholestérol qui peut provoquer des blocages dans les artères et augmenter le risque des maladies cardiaques) et le traitement du diabète en réduisant la glycémie [329]. En raison de ses propriétés et de sa faible toxicité, l'acide férulique est aujourd'hui largement utilisé dans les industries alimentaire et cosmétique. Il sert de matière première pour la production de vanilline et de conservateurs, d'agent de réticulation pour la préparation de gels alimentaires et de films comestibles.

### 1.9.2 Acide salicylique

L'acide salicylique, également appelé acide 2-hydroxybenzoïque, est principalement utilisé dans la préparation d'aspirine et d'autres produits pharmaceutiques. L'acide salicylique est présent dans des plantes aussi diverses que *Salix spp.*, *Sauromatum guttatum*, *Grindelia spp.* Et *Mespilus germanica* et est également produit par la bactérie *Pseudomonas cepacia* [330] ainsi que ceux mentionnées dans le tableau 1.7.

L'acide salicylique possède des propriétés kératolytiques, anti-inflammatoires, antipyrétiques, analgésiques, antiseptiques et antifongiques pour plusieurs affections cutanées telles que les pellicules et la dermatite séborrhéique, l'ichtyose, le psoriasis, l'acné, etc. [331]. Il fonctionne comme un médiateur hormonal des réponses de la résistance des plantes au stress environnemental et aux attaques de pathogènes. L'acide libre se produit naturellement en petites quantités dans de nombreuses plantes.

Les plantes ont développé une gamme de défenses structurelles, chimiques et à base de protéines conçues pour détecter les organismes envahisseurs et les arrêter avant qu'ils ne puissent causer des dommages importants. La maladie peut être causée par des agents vivants (biotiques), y compris des champignons et des bactéries, ou par des facteurs environnementaux (abiotiques) tels qu'une carence en nutriments, une sécheresse, un manque d'oxygène, une température excessive, un rayonnement ultraviolet ou une pollution. Afin de se protéger des dommages, les plantes ont développé une grande variété de défenses constitutives et inductibles. Ce phénomène est appelé résistance systémique

acquise (SAR) et implique la mobilisation des ressources végétales en cas d'attaque supplémentaire. Les plantes répondent par une cascade de signalisation salicylique qui conduit à l'expression systémique d'un large spectre et d'une résistance aux maladies de longue durée qui est efficace contre les champignons, les bactéries et les virus [332]. On pense que l'acide salicylique dans les plantes est dérivé de la voie de la phénylalanine par la voie d'oxydation de la chaîne de l'acide cinnamique [333].

### 1.9.3 Acides cinnamiques

Dont l'acide trans-cinnamique présent dans la cannelle, à laquelle son ester éthylique donne son odeur caractéristique, ou de certains arbustes balsamiques (tableau 1.7). L'activité antioxydante de l'acide cinnamique et de quatre dérivés homologues s'est avérée différente selon le type de substitution aromatique (*p*-hydroxy, *p*-hydroxyméthoxy, *p*-hydroxydiméthoxy, dihydroxy). L'activité antioxydante a été étudiée à l'aide d'un test cinétique de compétition qui mesurait la capacité relative à neutraliser les radicaux peroxy et la modification oxydative in vitro de la lipoprotéine humaine de basse densité. Dans les deux modèles, les acides cinnamiques étaient plus efficaces que leurs homologues benzoïques [334].

### 1.9.4 Acide 3-hydroxybenzoïque

L'acide 3-hydroxybenzoïque se trouve dans des plantes communes telles que *Citrus paradisi*, *Olea europaea* et *Mespilus germanica*. L'acide *p*-hydroxybenzoïque (acide 4-hydroxybenzoïque) a été isolé à partir de nombreuses sources, notamment *Daucus carota*, *Elaeis guineensis*, *Vitis vinifera* et de nombreuses autres espèces, notamment *Fagara macrophylla* d'Afrique de l'Est, *Xanthophyllum rubescens*, *Paratecoma peroba*, *Tabebuia impetiginosa*, *Pterocarpus santalinus bignonioides*, *Vitex negundo*, *Areca catechu*, *Roystonea regia* et *Mespilus germanica* [335] ainsi que dans l'autres plantes (tableau 1.7). Il montre des activités antifongiques, antimutagènes, antisickling et œstrogéniques [336, 337].

### 1.9.5 Acide gentisique

L'acide gentisique (acide 2,5-dihydroxybenzoïque) est un agent analgésique, anti-inflammatoire, antirhumatismal, antiarthritique et cytostatique, et inhibe l'oxydation des lipoprotéines de basse densité dans le plasma humain [338]. On pense que l'acide

gentisique est responsable de l'activité anti-cancérogène de l'extrait d'hibiscus de rose de Chine (*Hibiscus rosa-sinensis*), et une étude récente a montré que l'acide gentisique est un inhibiteur du facteur de croissance des fibroblastes (FGF) [339, 340].

### 1.9.6 Acide gaulois

L'acide 3,4,5-trihydroxybenzoïque est un phytochimique répandu qui se produit dans *Allanblackia floribunda*, la *Garcinia densivenia*, la *Bridelia micrantha*, *Caesalpinia sappan*, *Dillenia indica*, *Diospyros cinnabarina*, *Paratecoma peroba*, *Psidium guajac cordava*, *Syzum Rhus typhina*, *Tamarix nilotica*, *Vitis vinifera*, *Hamamelis virginiana* et *Toona sinensis* [341]. L'acide gaulois présente une activité anticancéreuse médiée par ROS dans les cellules cancéreuses de la prostate humaine [342] et possède des propriétés antimélanogéniques. Une fraction phénolique d'onagre (*Oenothera biennis*) contenant 55% d'acide gaulois a montré une activité antitumorale [343]. Il a été proposé comme candidat pour le traitement des tumeurs cérébrales car il supprime la viabilité cellulaire, la prolifération, l'invasion et l'angiogenèse dans les cellules de gliome humain. L'acide gaulois induit la mort des cellules cancéreuses du col de l'utérus HeLa par apoptose et / ou nécrose [344]. L'acide gaulois a montré des résultats prometteurs en tant qu'agent anti-HSV-2 (virus de l'herpès simplex) [345].

### 1.9.7 Acide vanillique

L'acide vanillique (acide 4-hydroxy-3-méthoxybenzoïque) est présent dans de nombreuses plantes telles que *Fagara spp.*, *Alnus japonica*, *Elaeagnus pungens*, *Erica australis*, *Gossypium mexicanum*, *Melia azedarach*, *Panax ginseng*, *Paratecoma koraiensis*, *Pterocarpus santalinus*, *Rosa canina*, *Picrorhiza kurroa*, *Trachelospermum asiaticum*, *Amburana cearensis* et *Lentinula edodes* ainsi que dans l'autres plantes (tableau 1.7). Outre les activités antisickling et anthelminthiques, l'acide vanillique pourrait supprimer la fibrose hépatique dans les lésions hépatiques chroniques [346]. Il s'avère également être un inhibiteur de la 50-nucléotidase de venin de serpent [347].

### 1.9.8 Acide sinapique

L'acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxy-cinnamique est un composé phénylpropanoïde présent dans diverses matières végétales et céréales à haute teneur en son (tableau 1.7). Il a été rapporté que l'acide sinapique a une efficacité antioxydante comme chélateur des métaux en raison de l'orientation des groupes fonctionnels. L'administration d'acide

sinapique a montré une inversion significative de la toxicité induite par l'arsenic dans les tissus hépatiques [348].

Le diabète est un problème majeur de santé publique et le développement de nouvelles thérapies capables d'améliorer la gestion de la glycémie et même de guérir le diabète est d'un grand intérêt. Dans une étude destinée à évaluer l'effet de l'acide sinapique sur les paramètres physiologiques et biochimiques chez des rats diabétiques induits par la streptozotocine, l'administration orale d'acide sinapique pendant une période de 35 jours a rétabli tous ces paramètres biochimiques à un niveau proche de la normale [349].

### 1.9.9 Acide Digallique

L'acide digallique (acide [3,4-dihydroxy-5- (3,4,5-trihydroxybenzoyl) - oxy] benzoïque) est isolé à partir de *Acacia farnesiana*, *Acacia arabica*, *Metasequoia glyptostroboides*, *Castanopsis spp.*, *Quercus aliena*, *Mangifera indica*, *Rhus chinensis*, *Adenia cissampeloides*, *Terminalia chebula* et *Pistacia lentiscus*. C'est un inhibiteur de la transcriptase inverse du VIH et a une activité cytotoxique / anti-apoptotique et présente également des activités antigénotoxiques et antioxydantes [350].

### 1.9.10 Acides diféruliques

Ils ont été retrouvés dans les parois cellulaires de la plupart des plantes, mais sont présents à des niveaux plus élevés dans les herbes et aussi dans la betterave à sucre. Le 8-O-4'-DiFA a tendance à prédominer dans les graminées, mais prédomine également dans le son d'orge. Dans la betterave sucrière, les acides diféruliques prédominants sont respectivement le 8-O-4'-DiFA et le 8,5'-DiFA [351]. On pense que les férulats jouent un rôle important dans la modification des propriétés mécaniques des parois cellulaires ainsi que dans la limitation de la dégradation des polysaccharides par les enzymes exogènes en agissant comme une réticulation entre les polysaccharides et entre les polysaccharides et la lignine [352]. La dimérisation des férulates est un mécanisme de réticulation des polysaccharides de la paroi cellulaire. Des férulats ont été extraits attachés à quelques molécules de sucre aux deux extrémités, mais jusqu'à présent aucune preuve définitive de leur liaison entre des chaînes polysaccharidiques séparées n'a été trouvée. Dans les cellules de maïs cultivées en suspension, la dimérisation de l'acide férulique et leur estérification en polysaccharides se produisent principalement dans le protoplasme, mais peuvent se produire dans les parois cellulaires lorsque les niveaux de peroxyde augmentent en raison

de la pathogenèse. Dans les cellules de blé cultivées en suspension, seul l'acide 8,5'-diféruilique est formé par voie intraprotoplasmique, les autres dimères étant formés dans la paroi cellulaire [353, 354].

### 1.9.11 Acide rosmarinique

L'acide O-caféoyl-3,4-dihydroxyphényllactique, est un acide phénolique: l'acide (R) -alpha- [3- (3,4-dihydroxyphényl) -1-oxo-2E-propényl] oxydihydroxybenzènepranoïque se trouve dans de nombreuses espèces médicinales appartenant aux Lamiaceae et Boraginaceae, notamment le basilic, la sauge, le romarin, la menthe et la *Perilla frutescens* [355] ainsi que dans l'autres plantes (tableau 1.7). Il a été démontré qu'il exerce des effets antioxydants in vitro contre les radicaux superoxydes et les radicaux hydroxyles [356].

L'acide rosmarinique présente diverses activités pharmacologiques, notamment la suppression antivirale, antithrombotique et antiplaquettaire de la prolifération induite par les cytokines des cellules mésangiales de culture murine, la prévention de l'oxydation des lipoprotéines de basse densité, l'inhibition de l'activité proliférative des cellules murines et de la cyclooxygénase et l'action anti-allergique [357-359]. L'acide rosmarinique est utilisé pour traiter les ulcères gastro-duodénaux, l'arthrite, la cataracte, le cancer, la polyarthrite rhumatoïde et l'asthme bronchique. L'acide rosmarinique et ses dérivés possèdent des activités biologiques prometteuses, telles que l'amélioration des performances cognitives, la prévention développement de la maladie d'Alzheimer, effets cardioprotecteurs, réduction de la gravité des maladies rénales et chimioprévention du cancer.

## CHAPITRE 2

# QUANTIFICATION DES ACIDES PHENOLIQUES PAR SPECTROSCOPIE INFRAROUGE A TRANSFORMEE DE FOURIER EN UTILISANT LA METHODE DES MOINDRES CARRES PARTIELS (PLS-IRTF) DANS LES EXTRAITS DE PLANTES MEDICINALES

### 2.1. Introduction

Les composés phénoliques comprennent les phénols simples, les acides phénoliques (dérivés des acides hydroxycinnamique et hydroxybenzoïque comme les acides *p*-hydroxybenzoïque, vanillique, protocatéchuïque, etc.), les phénols monoterpéniques (comme l'eugénol et le thymol), les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les coumarines, le stilbène, les lignanes, les lignines, condensés les tanins et les naphtoquinones sont des substances bioactives largement présentes dans les plantes alimentaires [435-439].

Plus de 8 000 structures phénoliques ont été signalées et elles sont largement dispersées dans les plantes. Ils sont synthétisés par les voies shikimate, polykétide et mévalonate ou voies mixtes, qui produisent une grande variété de phénols végétaux.

À la fin du XX<sup>e</sup> siècle, l'intérêt pour les composés phénoliques alimentaires a augmenté en raison de leurs capacités antioxydantes et anti-radicalaires [440], anti-inflammatoires, modulation de la transduction du signal, antimicrobiennes et anti-prolifération [441]. Les polyphénols peuvent exercer un effet antioxydant indirect, en protégeant les enzymes antioxydantes endogènes dans le corps humain [442-444].

Ce présent chapitre porte sur le développement d'une méthode de quantification des acides phénoliques dans les extraits de plantes médicinales par spectrométrie infrarouges à transformée de Fourier.

La construction des modèles de calibration multivariées PLS-IRTF a été basée sur deux stratégies de calibration. La première consiste à réaliser une matrice de calibration de mélanges de trois composés appartenant à la même classe d'acides hydroxybenzoïques, et la deuxième en considérant des mélanges de composés appartenant à différentes classes

d'acides phénoliques à savoir ; les acides hydroxybenzoïques, les acides hydroxycinnamiques ainsi que les phénols simple et mono-terpénique.

L'objectif principal de ce travail de recherche était le développement d'une nouvelle méthode d'analyse pour la détermination des teneurs des acides phénoliques majoritaires (l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide salicylique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide *p*-coumarique, l'acide gallique, l'eugénol et le thymol) chez les espèces de thym (*Thymus vulgaris*), d'origan (*Origanum vulgare*), de romarin (*Salvia Rosmarinus*), de cannelle (*Cinnamomum cassia*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*) par la calibration multivariable de la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS) en mode transmission et ATR..

Cette étude constitue une contribution dans le vaste domaine des méthodes, des développements et de l'analyse par spectroscopie infrarouge.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et Biomolécules (LCSN-BioM), laboratoire du département de chimie, faculté des sciences, Université Saad-Dahlab Blida 1 ainsi qu'au laboratoire de chimie analytique à l'Université de Valencia, en Espagne.

## 2.2 Partie expérimentale

### 2.2.1 Appareils et logiciels

Un spectromètre IRTF, modèle Tensor 27 de Bruker (Brême, Allemagne) a été utilisé pour obtenir les mesures en mode ATR après évaporation du solvant sur un disque en diamant. Équipé d'un détecteur DLaTGS, et à neuf réflexions pour liquides (Smiths Detection Inc. (Warrington, UK)), un microlitre de chaque extrait de plantes a été séchés sur le cristal de diamant de l'accessoire Dura Sample IR.

Dans les cellules ATR à réflexions multiples, le faisceau infrarouge est réfléchi plusieurs fois. Chaque réflexion sur la surface du cristal ATR présente une onde évanescente qui interagit avec l'échantillon. Puisque les interactions sont indépendantes les unes des autres, les absorptions sont additives et la sensibilité du spectre enregistré peut être augmentée en raison du rapport signal sur bruit significativement plus élevés.

Un spectromètre de la série JASCO FT/IR-4000 (Lisses, France), équipé d'un détecteur de triglycinesulfate deutéré stabilisé en température (DLaTGS) et d'un séparateur de faisceau KBr, a été utilisé pour les mesures de transmission dans la gamme spectrale de 4000 à 500  $\text{cm}^{-1}$ , et avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Une pompe péristaltique, DULCO-DF<sub>2</sub>a (Heidelberg, Allemagne), a été utilisée pour remplir une cellule à flux à circulation de 1 mm de longueur équipée d'une fenêtre BaF<sub>2</sub> (figure 2.1). Le logiciel Opus 6.5, de chez Bruker, a été utilisé pour le contrôle des instruments et le traitement des données spectrales. Des étalonnages univariés et multivariés ont été effectués à l'aide des applications Quant1 et Quant2.

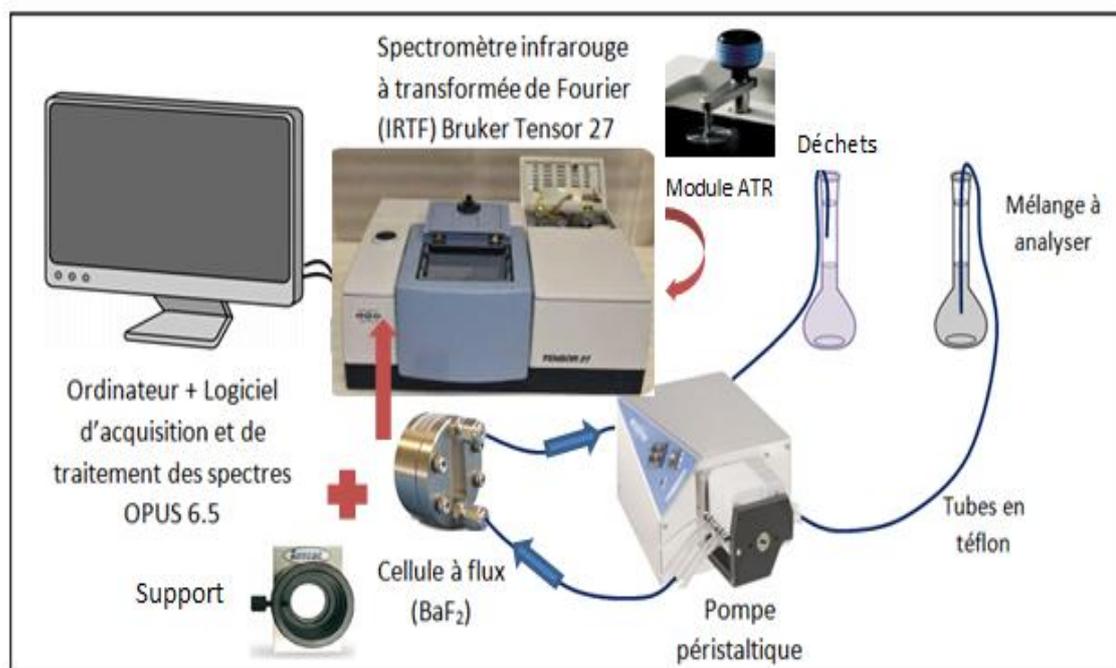


Figure 2.1 : Montage IRTF utilisé pour l'analyse des solutions en mode flux bloqué (Stop-Flow).

### 2.2.2 Réactifs et produits

Du dichlorométhane de qualité analytique multisolvant (La gamme MULTISOLVENT® est une classe à part pour une multitude d'applications) stabilisé avec 50 ppm d'amylène de Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Munich, Allemagne) et de l'éthanol absolu, de VWR International (Fontenay-sous-Bois, France), ont été utilisés pour la préparation de solutions étalons et d'échantillons synthétiques.

Les standards de grade analytique tel que l'acide salicylique, avec une pureté de 99%, l'acide gallique, avec une pureté de 99%, l'acide *trans*-cinnamique, avec une pureté de 99%, l'acide *p*-coumarique, avec une pureté de 99%, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, avec une pureté de 99%, l'acide vanillique, avec une pureté de 98%, l'eugénol, avec une pureté de 98%, le thymol, avec une pureté de 99% ont été fournies par Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Munich, Allemagne).

### 2.2.3 Extraits de plantes

Le matériel végétal, à savoir ; le thym (*Thymus vulgaris*), l'origan (*Origanum vulgare*), le romarin (*Salvia Rosmarinus*), la cannelle de chine (*Cinnamomum cassia*) et le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), a été acheté sur le marché local de Blida (Algérie)

et de Valence (Espagne). Les plantes séchées ont été coupées et stockées dans des récipients scellés de couleur ambré et, conservées dans l'obscurité à température ambiante (20°C) jusqu'à leur utilisation. La Figure 2.2 illustre le protocole d'extraction de la fraction riche en composés phénolique à partir du matériel végétal.

Une macération de 30 g de clous de girofle, de cannelle, d'origan, de romarin et de thym séchés a été réalisée dans de l'eau/méthanol (H<sub>2</sub>O/MeOH) à volume égal pendant 24 heures, suivie d'une filtration sur papier Whatman de 45 mm de diamètre et d'une évaporation rotative à sec à 40°C et stockage de l'extrait au réfrigérateur à 4°C (figure 2.2).

Les extraits éthanoliques de thym, d'origan et de romarin ont été préparés en macérant 0,5 g de plantes sèches dans 2 ml d'éthanol pendant 24 heures et en conservant l'extrait jusqu'à l'analyse. Les extraits H<sub>2</sub>O/MeOH ont été analysés par transmission-IRTF et les extraits éthanoliques ont été analysés par ATR-IRTF.

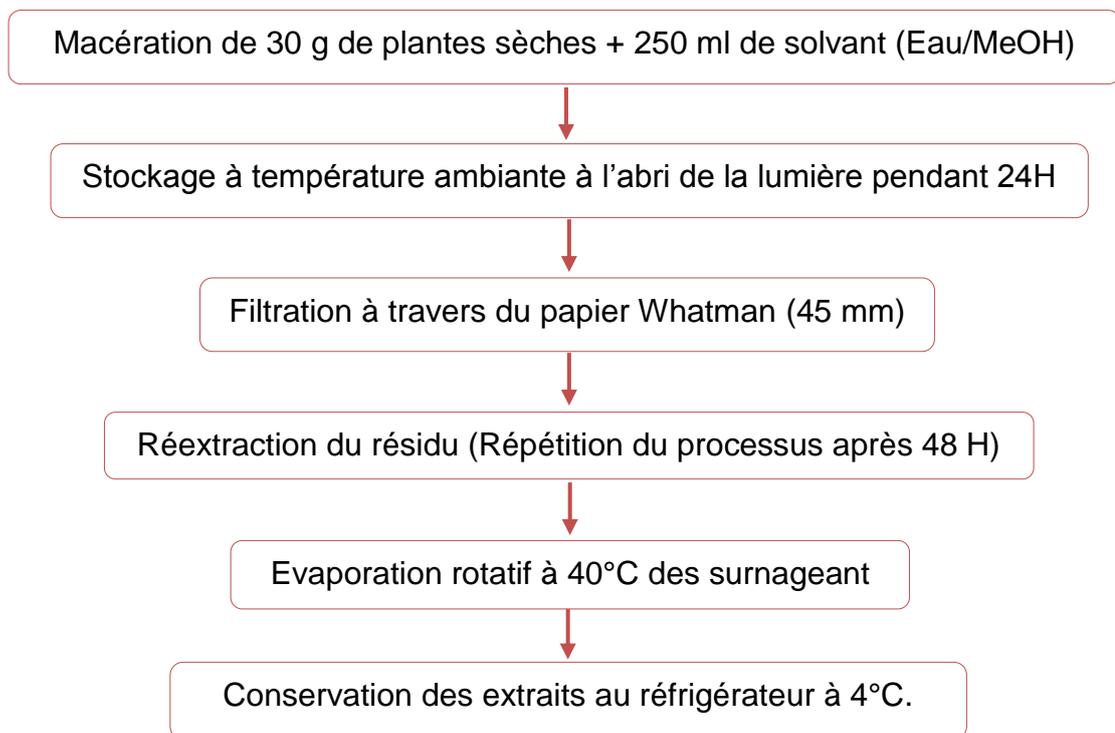


Figure 2.2 : Protocole d'extraction de la fraction riche en composés phénoliques à partir du matériel végétal [445].

## 2.2.4 Préparation de solutions étalons

### 2.2.4.1 Cas de la calibration monovariée

Pour l'étalonnage univarié, des solutions individuelles contenant de l'acide salicylique, des acides *p*-hydroxybenzoïques, de l'acide vanillique, de l'acide gallique, de

l'acide *trans*-cinnamique, de l'acide *p*-coumarique, de l'eugénol et du thymol ont été préparées à partir d'une solution mère de concentration de 10 mg mL<sup>-1</sup> dans un domaine de concentration dynamique allant de 0.25 à 5.00 mg mL<sup>-1</sup> contenant des concentrations de S<sub>1</sub> = 0.25 mg mL<sup>-1</sup>; S<sub>2</sub> = 0.50 mg mL<sup>-1</sup>; S<sub>3</sub> = 1.00 mg mL<sup>-1</sup>; S<sub>4</sub> = 2.50 mg mL<sup>-1</sup>; S<sub>5</sub> = 5.00 mg mL<sup>-1</sup> (tableau 2.1) en utilisant comme solvant un mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH dans une proportion de 90:10 (v/v) pour les mesures de transmission et de l'éthanol (EtOH) pour les mesures en mode ATR.

Tableau 2.1 : Composition des solutions étalons à 10 mg mL<sup>-1</sup> de l'acide salicylique, des acides *p*-hydroxybenzoïques, de l'acide vanillique, de l'acide gallique, de l'acide *trans*-cinnamique, de l'acide *p*-coumarique, de l'eugénol et du thymol.

Solutions préparée	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
Concentrations (mg mL <sup>-1</sup> )	0.25	0.50	1.00	2.50	5.00

## 2.2.4.2 Cas de la calibration multivariée

### 2.2.4.2.1 Préparation des matrices de calibration

Pour construire les modèles PLS, une conception expérimentale selon un plan expérimental de 2<sup>n</sup>, où « n » est le nombre de standards considérés dans l'établissement de la matrice de calibration et « 2 » représentant les deux niveaux de concentrations maximale et minimales, a été établie.

Afin de vérifier l'effet de la composante de la matrice de calibration sur les paramètres de prédiction, il a été décidé de construire trois modèles de calibration PLS comme indiqué ci-dessous :

- Modèle PLS I : Dans ce cas, la matrice de calibration a été obtenue en considérant des mélanges des trois composés appartenant à la même classe d'acides hydroxybenzoïques. Un plan expérimental de 2<sup>3</sup> est montré dans le tableau 2.2.

Tableau 2.2 : Modèle PLS I de même classe (matrice de calibration avec un plan expérimental de  $2^3$ ).

Étalon Solution étalon	Acide vanillique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Acide salicylique	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M 01	2.00	1.00	3.00	1.50	4.00	2.00
M 02	0.20	0.10	0.30	0.15	0.40	0.20
M 03	2.00	1.00	0.30	0.15	0.40	0.20
M 04	2.00	1.00	3.00	1.50	0.40	0.20
M 05	0.20	0.10	3.00	1.50	4.00	2.00
M 06	0.20	0.10	0.30	0.15	4.00	2.00
M 07	0.20	0.10	3.00	1.50	0.40	0.20
M 08	2.00	1.00	0.30	0.15	4.00	2.00

- Modèle PLS II : La matrice de calibration a été obtenue en considérant des mélanges des quatre composés appartenant à différentes classes d'acides phénoliques à savoir ; les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques. Pareillement, le tableau 2.3 montre les niveaux de concentration, maximale et minimale, de chaque standard ainsi que la composition des seize mélanges.

Tableau 2.3 : Modèle PLS II d'acide phénoliques de différentes classes (matrice de calibration avec un plan expérimental de  $2^4$ ).

Étalon Solution étalon	Acide <i>p</i> -coumarique		Acide <i>trans</i> -cinnamique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Acide salicylique	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M 01	0.10	0.05	0.20	0.10	0.30	0.15	0.40	0.20
M 02	0.10	0.05	0.20	0.10	0.30	0.15	4.00	2.00
M 03	0.10	0.05	0.20	0.10	3.00	1.50	0.40	0.20
M 04	0.10	0.05	2.00	1.00	0.30	0.15	0.40	0.20
M 05	1.00	0.50	0.20	0.10	0.30	0.15	0.40	0.20
M 06	0.10	0.05	0.20	0.10	3.00	1.50	4.00	2.00
M 07	0.10	0.05	2.00	1.00	0.30	0.15	4.00	2.00
M 08	0.10	0.05	2.00	1.00	3.00	1.50	0.40	0.20
M 09	1.00	0.50	0.20	0.10	3.00	1.50	0.40	0.20
M 10	1.00	0.50	0.20	0.10	0.30	0.15	4.00	2.00

<b>M 11</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	0.30	0.15	0.40	0.20
<b>M 12</b>	0.10	0.05	2.00	1.00	3.00	1.50	4.00	2.00
<b>M 13</b>	1.00	0.50	0.20	0.10	3.00	1.50	4.00	2.00
<b>M 14</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	0.30	0.15	4.00	2.00
<b>M 15</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	3.00	1.50	0.40	0.20
<b>M 16</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	3.00	1.50	4.00	2.00

$C_F$  : Concentration du standard dans la solution étalon en  $\text{mg mL}^{-1}$ ,  $V_M$  : Volume prélevé de la solution mère en ml (un volume final de 5 ml est considéré).

- Modèle PLS III : La matrice de calibration a été obtenue également en considérant des mélanges de quatre composés appartenant cette fois-ci à différentes classes phénoliques à savoir ; deux acides phénoliques de la classe des acides hydroxybenzoïques, un phénol simple (Thymol) et un phénol mono-terpénique semi-volatile (eugénol). Les niveaux de concentrations de chaque standard ainsi que la composition des seize mélanges sont montrés dans le tableau 2.4.

Tableau 2.4 : Modèle PLS III de différentes classes phénoliques (matrice de calibration avec un plan expérimental de  $2^4$ ).

Étalon Solution étalon	Acide <i>p</i> - hydroxybenzoïque		Acide salicylique		Eugénol		Thymol	
	$C_F$ ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	$V_M$ (ml)	$C_F$ ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	$V_M$ (ml)	$C_F$ ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	$V_M$ (ml)	$C_F$ ( $\text{mg mL}^{-1}$ )	$V_M$ (ml)
<b>M 01</b>	0.10	0.05	0.20	0.10	0.30	0.15	0.40	0.20
<b>M 02</b>	0.10	0.05	0.20	0.10	0.30	0.15	4.00	2.00
<b>M 03</b>	0.10	0.05	0.20	0.10	3.00	1.50	0.40	0.20
<b>M 04</b>	0.10	0.05	2.00	1.00	0.30	0.15	0.40	0.20
<b>M 05</b>	1.00	0.50	0.20	0.10	0.30	0.15	0.40	0.20
<b>M 06</b>	0.10	0.05	0.20	0.10	3.00	1.50	4.00	2.00
<b>M 07</b>	0.10	0.05	2.00	1.00	0.30	0.15	4.00	2.00
<b>M 08</b>	0.10	0.05	2.00	1.00	3.00	1.50	0.40	0.20
<b>M 09</b>	1.00	0.50	0.20	0.10	3.00	1.50	0.40	0.20
<b>M 10</b>	1.00	0.50	0.20	0.10	0.30	0.15	4.00	2.00
<b>M 11</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	0.30	0.15	0.40	0.20
<b>M 12</b>	0.10	0.05	2.00	1.00	3.00	1.50	4.00	2.00
<b>M 13</b>	1.00	0.50	0.20	0.10	3.00	1.50	4.00	2.00

<b>M 14</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	0.30	0.15	4.00	2.00
<b>M 15</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	3.00	1.50	0.40	0.20
<b>M 16</b>	1.00	0.50	2.00	1.00	3.00	1.50	4.00	2.00

$C_F$  : Concentration de l'étalon dans la solution étalon en  $\text{mg.ml}^{-1}$ ,  $V_M$  : Volume prélevé de la solution mère en ml (un volume final de 5 ml est considéré).

Il est à noter que toutes les solutions de calibration des trois modèles de PLS ont été préparées en utilisant comme solvants le dichlorométhane/éthanol  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :EtOH (90:10 v/v) ainsi que de l'éthanol pur (EtOH) pour les mesures de transmission et d'ATR, respectivement. Il est à noter également que les solutions individuelles mères de concentration de  $10 \text{ mg mL}^{-1}$  ont été utilisées pour la préparation des mélanges.

#### 2.2.4.2.2 Préparation de la matrice de validation des modèles PLS-ATR/Transmission-IRTF

Cette étape consiste à vérifier la fiabilité des modèles mathématiques PLS développée construits en utilisant des mélanges synthétiques de concentrations connues (tableaux 2.5, 2.6 et 2.7) correspondant aux différentes PLS effectuées par spectrométrie IRTF en mode ATR et Transmission-IRTF. Les spectres obtenus pour les solutions de mélanges synthétiques en mode transmission et en mode ATR ont été préparés en utilisant comme solvant un mélange de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /EtOH dans une proportion de 90:10 (v/v) et d'éthanol, respectivement, c'est-à-dire qu'elles ont été traitées dans les mêmes conditions que celle décrite pour la préparation des solutions de calibration. Les spectres ont été obtenus en accumulant 50 scans pour l'ATR et 25 scans pour la transmission avec une résolution spectrale de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

Tableau 2.5 : Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS I.

Étalon Mélanges synthétiques	Acide vanillique		Acide <i>p</i> - hydroxybenzoïque		Acide salicylique	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M 01	0.40	0.20	0.70	0.35	0.60	0.30
M 02	0.60	0.30	1.20	0.60	1.00	0.50
M 03	0.80	0.40	1.50	0.75	1.40	0.70
M 04	1.00	0.50	1.80	0.90	2.00	1.00
M 05	1.20	0.60	2.00	1.00	2.40	1.20
M 06	1.40	0.70	2.40	1.20	3.00	1.50

Tableau 2.6 : Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS II.

Étalon ES	Acide salicylique		Acide <i>p</i> - hydroxybenzoïque		Acide <i>trans</i> - cinnamique		Acide <i>p</i> - coumarique	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M 01	0.60	0.30	0.70	0.35	0.40	0.20	0.30	0.15
M 02	1.00	0.50	1.20	0.60	0.60	0.30	0.40	0.20
M 03	1.40	0.70	1.50	0.75	0.80	0.40	0.50	0.25
M 04	2.00	1.00	1.80	0.90	1.00	0.50	0.60	0.30
M 05	2.40	1.20	2.00	1.00	1.20	0.60	0.70	0.35
M 06	3.00	1.50	2.40	1.20	1.40	0.70	0.80	0.40

Tableau 2.7 : Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration PLS III.

Étalon	Acide salicylique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Thymol		Eugénol	
	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)
M 01	0.60	0.30	0.70	0.35	0.40	0.20	0.30	0.15
M 02	1.00	0.50	1.20	0.60	0.60	0.30	0.40	0.20
M 03	1.40	0.70	1.50	0.75	0.80	0.40	0.50	0.25
M 04	2.00	1.00	1.80	0.90	1.00	0.50	0.60	0.30
M 05	2.40	1.20	2.00	1.00	1.20	0.60	0.70	0.35
M 06	3.00	1.50	2.40	1.20	1.40	0.70	0.80	0.40

Pour chaque mélange de la matrice de calibration et de validation nous avons réalisé 7 analyses IRTF dépendantes parmi lesquelles seulement 5 répliques spectrales ont été sélectionnées pour la construction des différents modèles PLS.

### 2.2.5 Mesure en mode IRTF-transmission

Les spectres de transmission-IRTF ont été enregistrés entre 4000 et 500cm<sup>-1</sup> avec une résolution nominale de 4 cm<sup>-1</sup>, en accumulant 25 scans par spectre. Un background de cellule, rempli d'un mélange de solvants CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) utilisé pour la préparation des échantillons, a été mesuré dans les mêmes conditions expérimentales et spectrales que les échantillons. Cinq mesures dépendantes de chaque solution ont été obtenues.

### 2.2.6 Mesure en mode ATR-IRTF

Un microlitre d'étalons ou d'échantillons dans l'éthanol a été placé sur la surface cristalline de l'ATR. Après évaporation du solvant soumis à un flux d'air, les spectres ont été enregistrés entre 4000 et 550 cm<sup>-1</sup>, avec une résolution de 4 cm<sup>-1</sup> en accumulant 50 scans devant un background de la cellule propre et vide obtenue dans les mêmes conditions instrumentales, en enregistrant trois spectres dépendants pour deux aliquotes de solutions indépendantes. Après avoir mesuré chaque portion d'échantillon, le cristal ATR a été

nettoyé avec de l'éthanol et un papier de cellulose doux, en vérifiant que la ligne de base a été récupérée après le nettoyage et avant l'introduction d'un autre échantillon.

### 2.2.7 Détermination de la teneur en phénols totaux par la méthode Folin-Ciocalteu

La teneur en phénols totaux a été déterminée par la méthode Folin-Ciocalteu [446] selon un protocole de Bellebcir modifié [447]. Un millilitre d'extrait, obtenu par dilution préalable de 25 mg de chaque extrait dans 5 ml d'eau distillée, ont été ajoutés à 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu dilué au 1:10. Au bout de 4 minutes, 12 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium à 2% ont été ajoutés, le mélange obtenu a été complété à un volume final de 25 mL. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance à 765 nm a été mesurée. Le protocole décrit est montré dans la figure 2.3.

Le domaine de concentration dynamique compris entre 2 et 80  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de l'acide gallique a été utilisé pour l'étalonnage de la courbe standard. Le dosage des solutions étalons d'acide gallique a été effectué dans les mêmes conditions expérimentales et avec les mêmes mesures spectrales que pour les solutions des extraits de plantes. Les teneurs en phénols totaux ont été exprimés en milligrammes d'équivalent d'acide gallique (mg EAG) par gramme de matières sèches en matériel végétal.

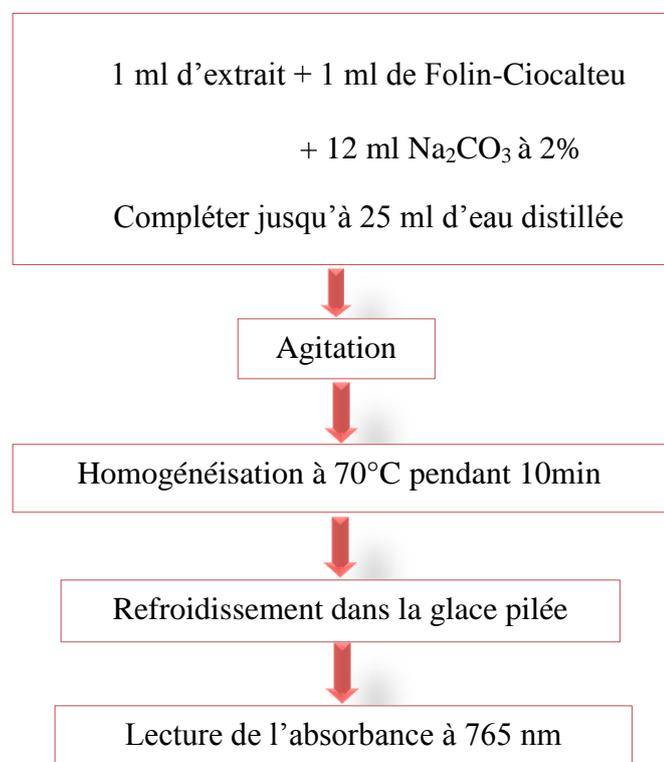


Figure 2.3 : Procédé de dosage selon Bellebcir modifié [447].

## 2.3 Résultats et discussion

### 2.3.1 Spectres IRTF des composés phénoliques et des phénols monoterpéniques

La figure 2.4 montre les spectres de transmission et ATR des composés considérés dans cette étude dilués dans le solvant d'analyse  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  (90:10 v/v) et éthanol (film sec), respectivement.

En raison de l'absorbance du mélange de solvants utilisé, les spectres de transmission présentent des régions de saturation dans les zones spectrales inférieures à  $775\text{ cm}^{-1}$  et de  $1015\text{ cm}^{-1}$  à  $1060\text{ cm}^{-1}$ ,  $1240\text{-}1280\text{ cm}^{-1}$ ,  $1237\text{-}1293\text{ cm}^{-1}$  et  $2825\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ .

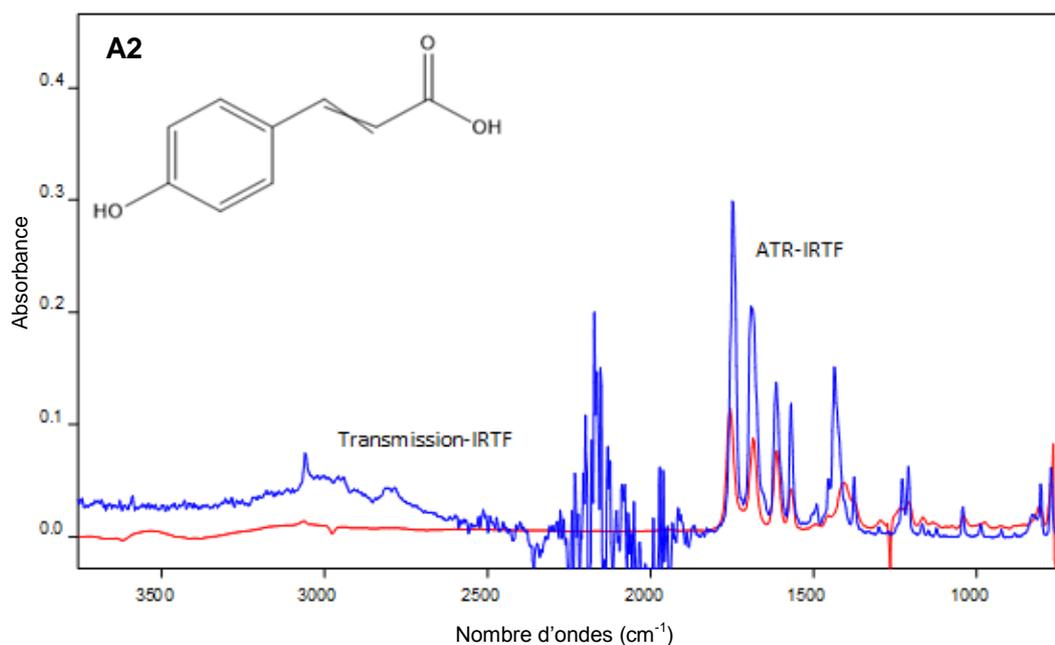
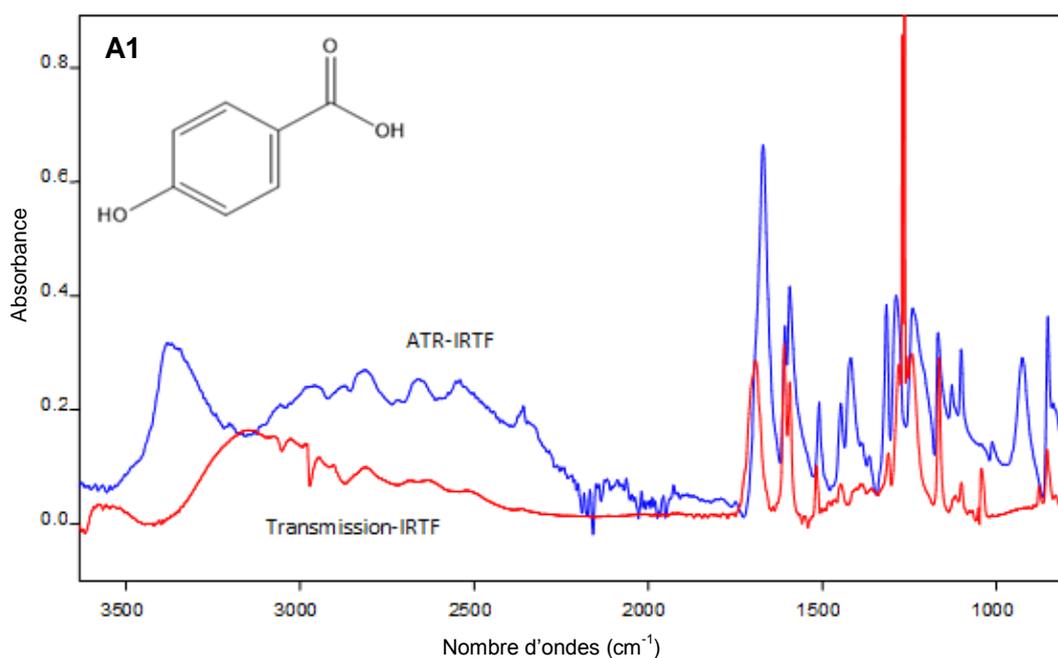
Le spectre IRTF de l'eugénol a montré des pics d'empreintes dans la région  $919\text{-}1265\text{ cm}^{-1}$  correspondant au groupement C-O-C. De plus, des pics à  $1638\text{ cm}^{-1}$ ,  $1609\text{ cm}^{-1}$  et  $1512\text{ cm}^{-1}$  ont également été trouvés à partir de l'eugénol en raison de l'élongation C=C du noyau aromatique [448, 449].

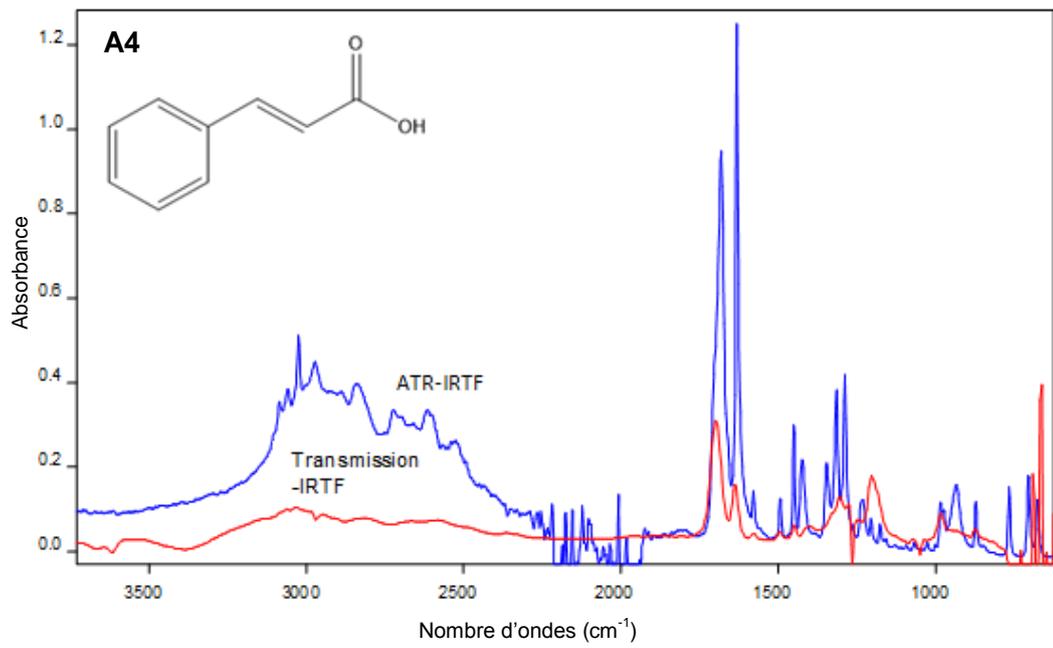
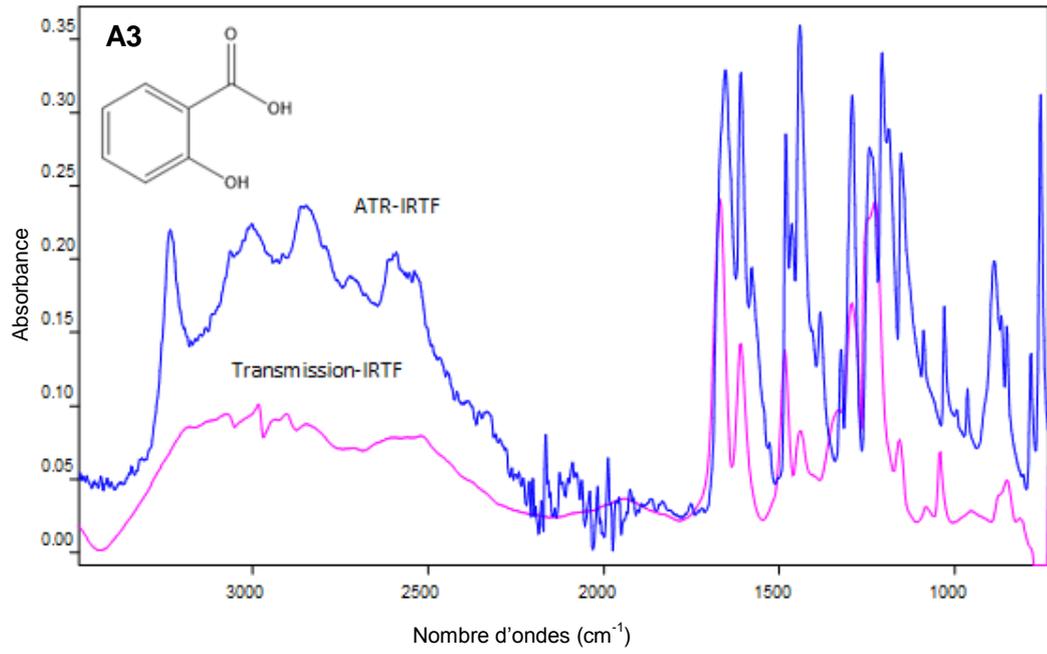
Pour le spectre du thymol, des bandes intenses à  $1158\text{ cm}^{-1}$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$ ,  $943\text{ cm}^{-1}$  et  $804\text{ cm}^{-1}$  ont été observées dues aux vibrations des bandes C-O qui sont principalement dues aux modes d'élongation C-OH dans les fractions ou groupements alcooliques COH et qui sont situées autour de  $900\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ . La région comprise entre  $2800\text{ cm}^{-1}$  et  $3800\text{ cm}^{-1}$  correspond aux vibrations des liaisons OH [450].

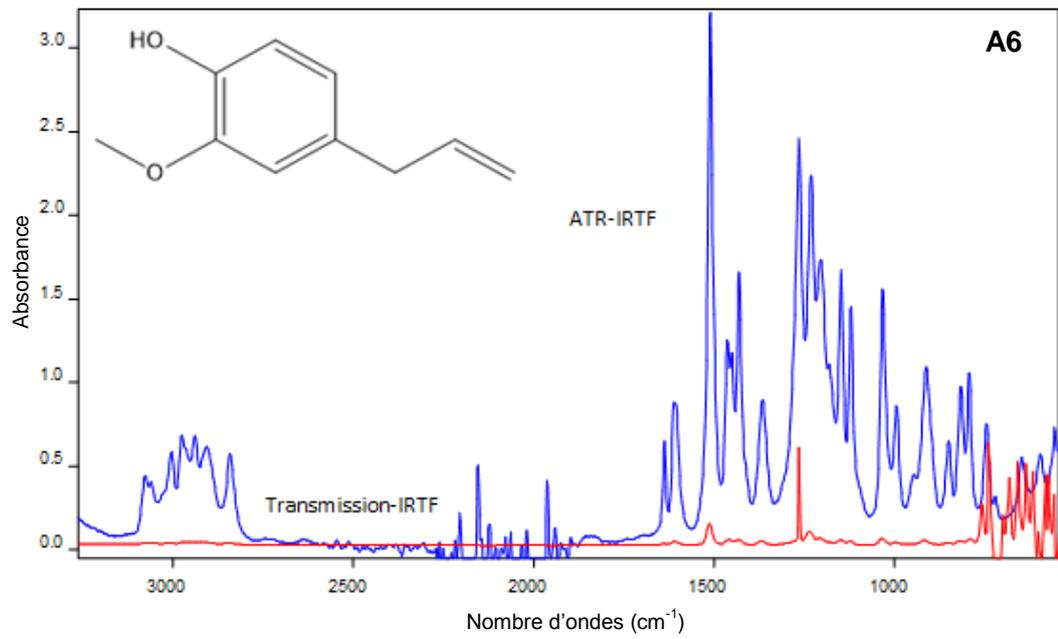
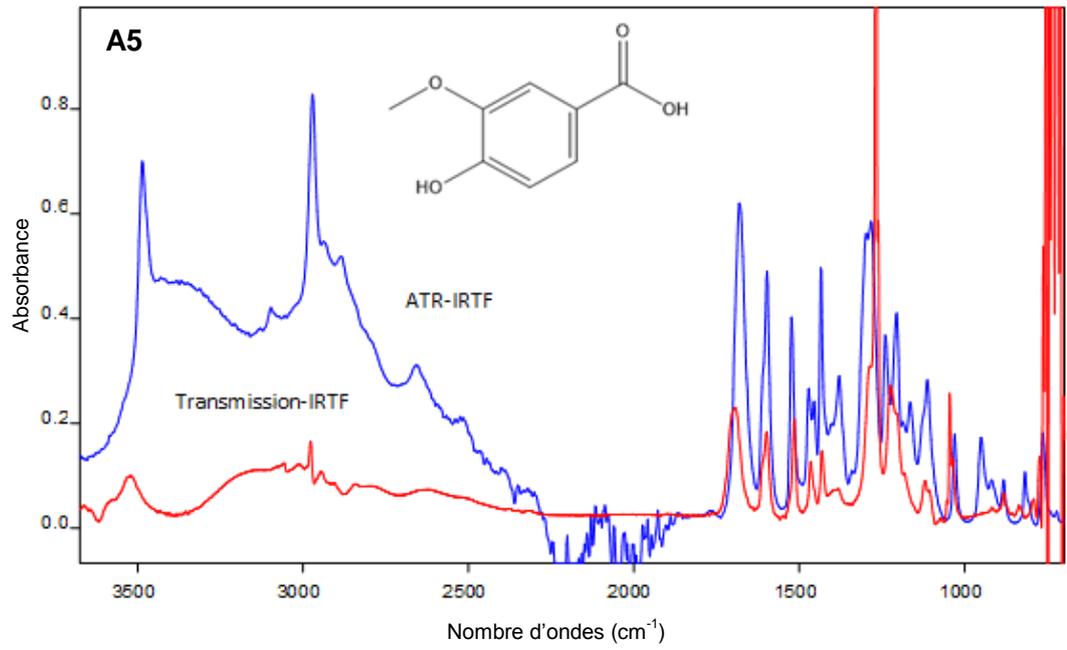
Les acides salicylique et *p*-hydroxybenzoïque présentent des bandes intenses à  $1735\text{ cm}^{-1}$ , qui correspondent à l'élongation de la liaison C=O, une bande à  $1635\text{ cm}^{-1}$  indiquant un allongement du groupe C=C d'un alcène, deux bandes intenses à  $1600\text{ cm}^{-1}$  et  $1515\text{ cm}^{-1}$  indiquant l'élongation du groupe aromatique (C=C), un pic d'étirement phénolique -OH à  $1595\text{ cm}^{-1}$ , et un pic à  $3440\text{ cm}^{-1}$  correspondant à l'acide carboxylique [451]. Les bandes moyennes allant de  $1160\text{ cm}^{-1}$  à  $1240\text{ cm}^{-1}$  ainsi qu'à la bande de  $1240\text{ cm}^{-1}$  (intense) représentent l'élongation de la liaison C-O des trois acides, la gamme de fréquence de  $1380$  à  $1465\text{ cm}^{-1}$  représentent des bandes caractéristiques due à la déformation des groupes CH,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$  et aux cycles [452, 453], et les pics à  $880$  à  $850\text{ cm}^{-1}$  montrent les cycles aromatiques tri- et para-substitués respectivement.

Les pics à  $1120\text{ cm}^{-1}$  et  $918\text{ cm}^{-1}$  indiquent l'élongation de la liaison C-O du groupement éther spécifique de l'acide vanillique, et les pics à  $880$  à  $850\text{ cm}^{-1}$  concernent respectivement les cycles aromatiques tri- et para-substitués [454].

Les spectres ATR-IRTF (film sec) des composés considérés (figure 2.4) montrent qu'il n'y a pas de signaux saturés dus au solvant et qu'une seule région bruyante a été observée entre  $2250$  et  $1900\text{ cm}^{-1}$  en raison de la forte absorbance de la surface diamantée de l'accessoire ATR.







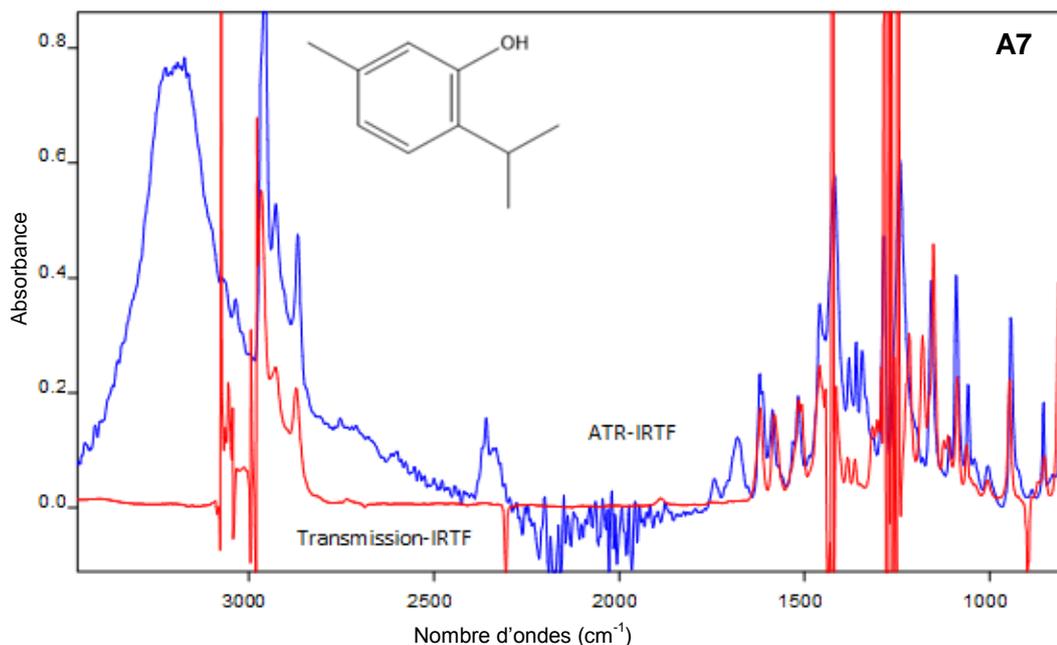


Figure 2.4 : Spectres ATR-IRTF et spectres de transmission-IRTF de l'acide *p*-hydroxybenzoïque (A1), de l'acide *p*-coumarique (A2), de l'acide salicylique (A3), de l'acide *trans*-cinnamique (A4), de l'acide vanillique (A5), de l'eugénol (A6) et du thymol (A7) dans de l'éthanol pour l'ATR et du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: EtOH (90:10 v/v) pour la transmission à une concentration de 5mg mL<sup>-1</sup> pour chaque mode. Les spectres ont été obtenus en accumulant 50 balayages pour l'ATR et 25 pour la transmission avec une résolution spectrale de 4 cm<sup>-1</sup> pour chaque mode.

La figure 2.5 comparent les spectres transmissions et les spectres infrarouges ATR d'un mélange synthétique avec une concentration de 1,00, 1,20 et 0,60 mg mL<sup>-1</sup> pour les acides salicylique, *p*-hydroxybenzoïque et vanillique, respectivement.

Comme on peut le voir, les mêmes bandes caractéristiques des trois composés apparaissent à la fois sur les spectres de transmission et ATR, mais dans ce dernier cas une résolution améliorée des standards a été observée.

Comme on peut le voir, les mêmes bandes caractéristiques des quatre composés apparaissent pour les spectres en transmission et ATR, mais dans ce dernier cas, une meilleure résolution des mesures a été observée.

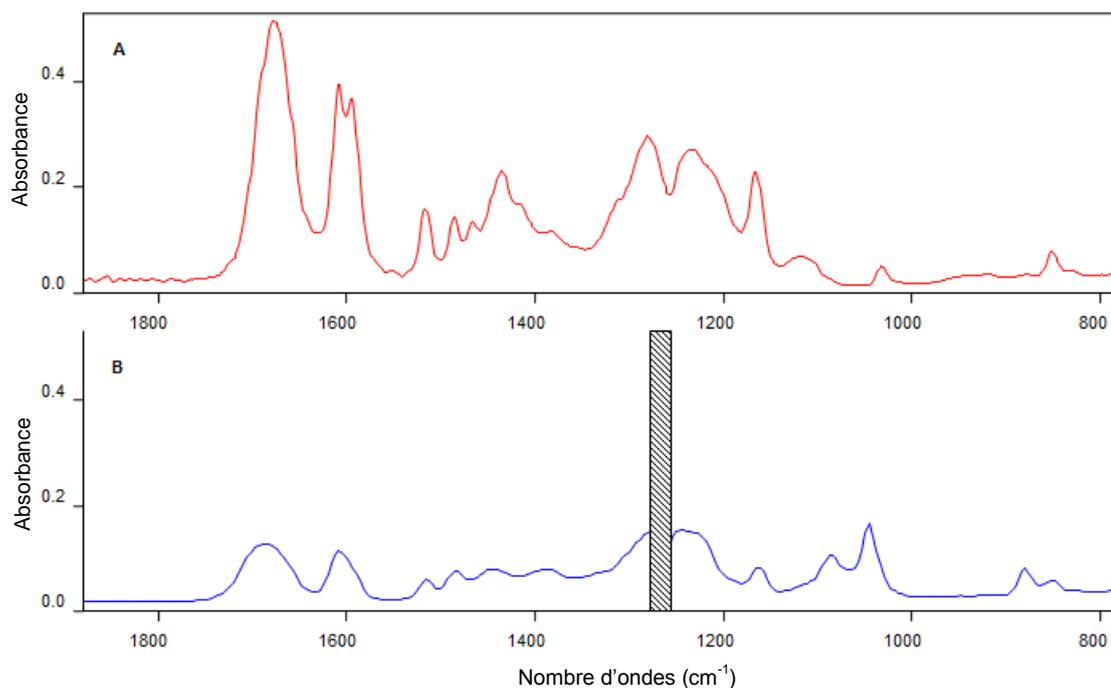


Figure 2.5 : Spectres d'un mélange synthétique de 1,00, 1,20 et 0,60 mg mL<sup>-1</sup> pour l'acide salicylique, *p*-hydroxybenzoïque et vanillique, respectivement, mesurés par ATR après séchage de 1 µl d'une solution d'EtOH (A) et par transmission dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: EtOH (90:10 v/v) (B). Les spectres ont été obtenus en accumulant 50 balayages pour ATR et 25 balayages pour transmission avec une résolution spectrale de 4 cm<sup>-1</sup>.

La technique de transmission IR est encore largement utilisée dans la spectroscopie IRTF de routine ainsi que dans la recherche. L'acquisition des spectres IRTF n'est pas seulement beaucoup plus rapide que celle obtenue avec des instruments dispersifs classiques mais les spectres montrent un rapport signal sur bruit significativement plus élevé et, comme l'échelle de longueur d'onde est calibrée avec un laser très précis, les spectres obtenus ont une précision de longueur d'onde bien supérieure.

Cependant, le développement des accessoires IRTF et des domaines de recherche à croissance rapide d'importance biologique s'appliquent aux systèmes d'intérêt où l'eau est le solvant le plus important. Les solutions aqueuses et l'eau elle-même ont été pendant de nombreuses années considérées comme un «poison» pour la spectroscopie infrarouge, et ce n'est que depuis l'application des techniques ATR que les spectres pertinents peuvent être enregistrés. Avec cette technique, tout un spectre infrarouge moyen peut être utilisé sans aucune restriction due aux effets de saturation des bandes vibratoires O-H aux alentours des 3400 cm<sup>-1</sup>.

Le seul inconvénient est que les spectres ATR nécessitent un traitement supplémentaire afin d'obtenir une signification physique au niveau moléculaire. Cela peut être facilement réalisé avec le calcul des constantes optiques en utilisant la transformation K-K bien connue. Bien qu'il y ait quelques obscurités avec le calcul des constantes optiques à l'aide de la transformation KK (le spectre est mesuré dans un intervalle fini, généralement seule la valeur approximative de  $n_{\infty}$  est connue, imperfections de l'instrumentation optique), la similitude entre les spectres calculés à partir des constantes optiques et les spectres mesurés en technique de transmission sont meilleurs que l'unité d'absorbance  $10^{-3}$  ou même mieux, si l'on est capable de décrire mathématiquement et / ou d'éviter ou au moins d'atténuer certaines des difficultés mentionnées dans la procédure de calcul des constantes optiques. C'est aussi l'une des raisons pour lesquelles une cellule CIRCLE-ATR est si largement utilisée. Sa symétrie cylindrique, son angle d'incidence de  $45^{\circ}$  et son optique simple mais très raffinée sont des caractéristiques qui nous permettent de calculer un spectre avec encore plus de précision.

De plus, comme l'ATR se sert du phénomène de réflexion, lorsqu'un faisceau passe d'un milieu dense à un milieu moins dense, la fraction du faisceau incident reflété augmente lorsque l'angle d'incidence devient plus grand. Au-delà d'un certain angle, la réflexion est complète (ou totale). Il a été démontré que durant la réflexion du faisceau, celui-ci pénètre d'une courte distance dans le milieu le moins dense. La profondeur de pénétration dépend des indices de réfraction des deux milieux, de la longueur d'onde utilisée et de l'angle du faisceau incident vis-à-vis l'interface. L'onde qui pénètre dans le milieu moins dense est appelé l'onde évanescente. Ainsi, lors de la réflexion totale du faisceau incident d'un milieu dense à moins dense, il y a perte d'intensité du signal, dû à l'onde évanescente qui pénètre dans le milieu moins dense, alors la réflexion totale est atténuée. Le milieu dense utilisé en ATR est un cristal d'indice de réfraction élevé, pouvant aller jusqu'à 4.01, qui permet d'obtenir une imagerie à haute résolution.

## 2.3.2 Calibration monovariée

### 2.3.2.1 Calibration monovariée en mode Transmission-IRTF

#### 2.3.2.1.1 Calibration monovariée des acides phénoliques et des phénols simple et monoterpénique étudiés

L'exploitation des spectres (figure 2.6) de l'acide *p*-hydroxybenzoïque, le l'acide salicylique, de l'acide *trans*-cinnamique, de l'acide *p*-coumarique, de l'acide vanillique, de l'eugénol et du thymol, à différentes concentrations à savoir ; ( $S_1 = 0.25 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_2 = 0.50 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_3 = 1.00 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_4 = 2.50 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_5 = 5.00 \text{ mg mL}^{-1}$ ), ainsi que les spectres de 10 blancs, ont été réalisés en utilisant le logiciel intégré pour déterminer les paramètres analytiques optimaux.

Par la suite, nous avons déterminé des points de  $\nu$  max où il y a lieu d'en tirer les paramètres analytiques optimaux.

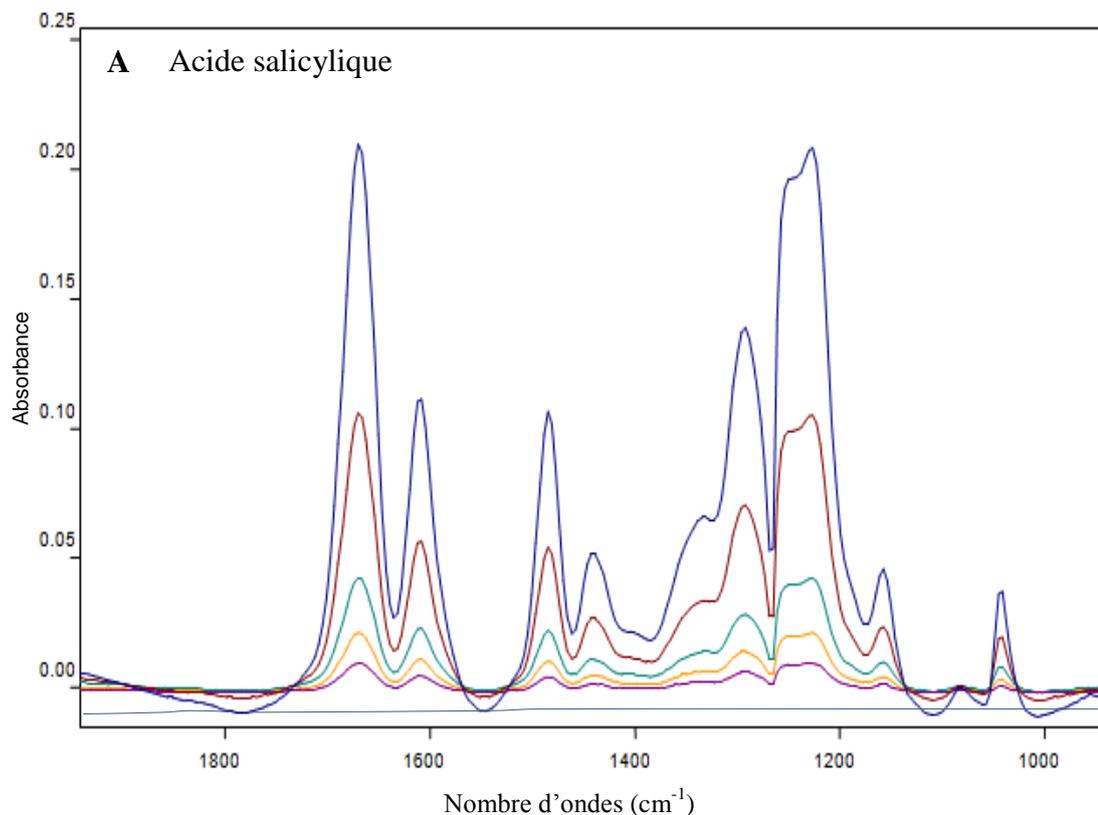
Pour chaque point  $\lambda$  max nous avons procédé à une calibration, et nous avons exploité la droite pour acquérir des résultats fiables, une optimisation est parfois nécessaire pour avoir un domaine où tous les point passe par la droite de calibration.

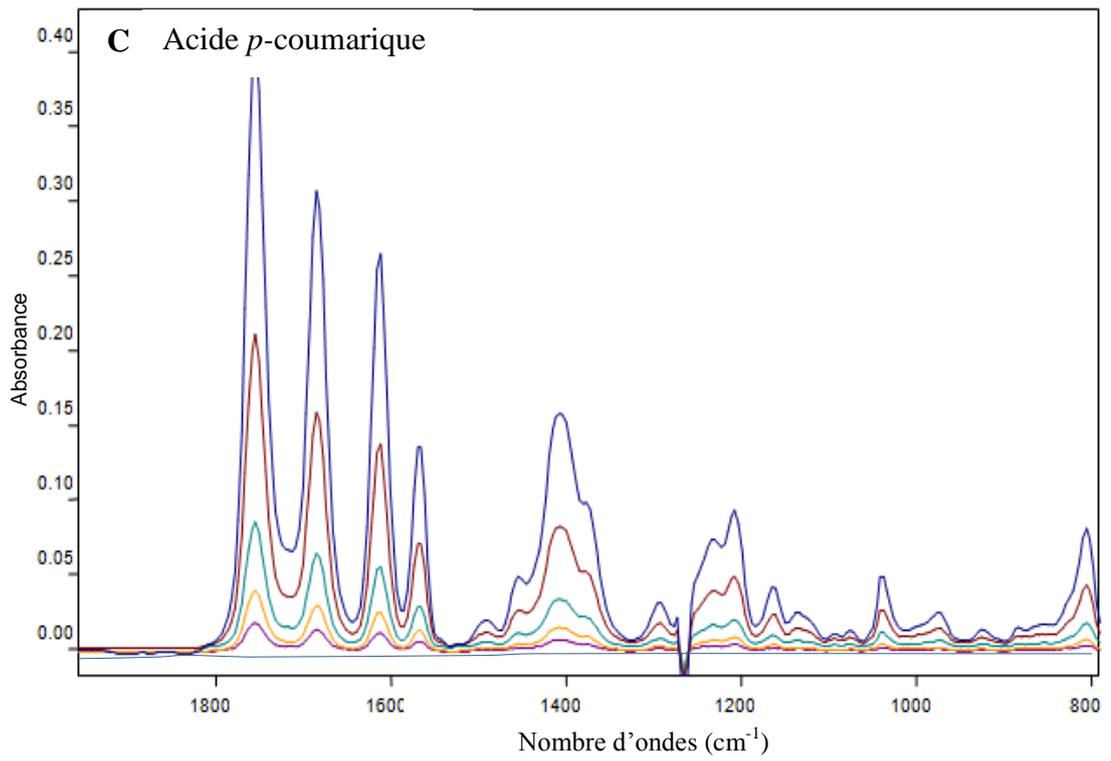
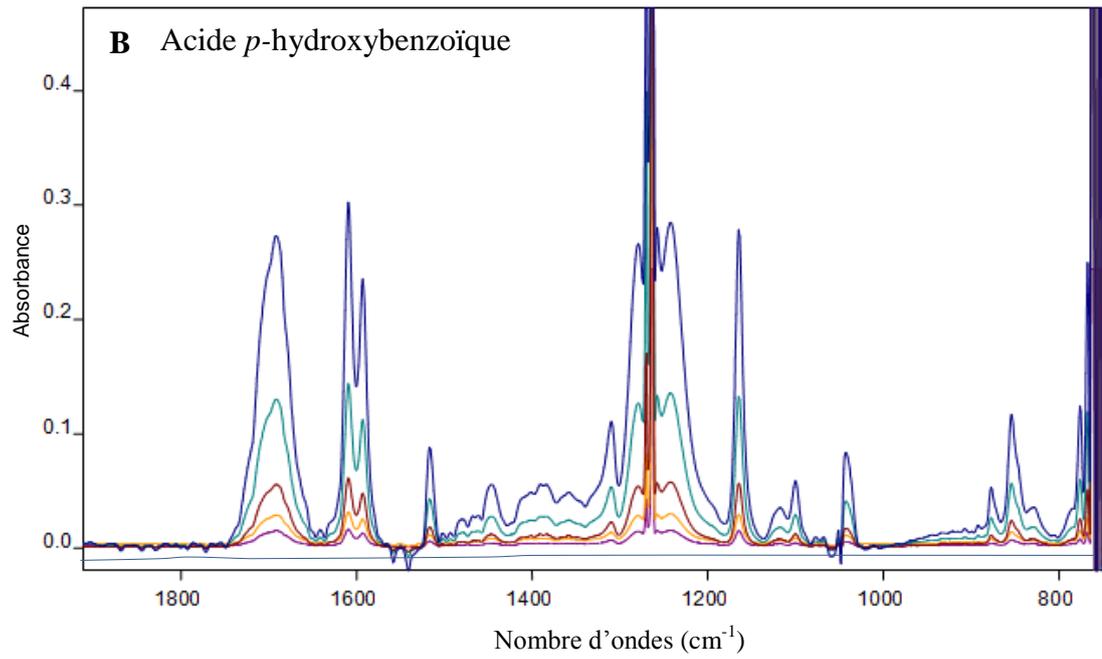
Le point de départ d'un étalonnage univarié repose sur le choix d'un modèle correct. Dans la majorité des cas, les méthodes s'appuient sur des phénomènes physico-chimiques qui peuvent se ramener à un modèle linéaire, au moins pour une certaine gamme de concentration. En d'autres termes, La linéarité d'une méthode est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans le matériau d'essai.

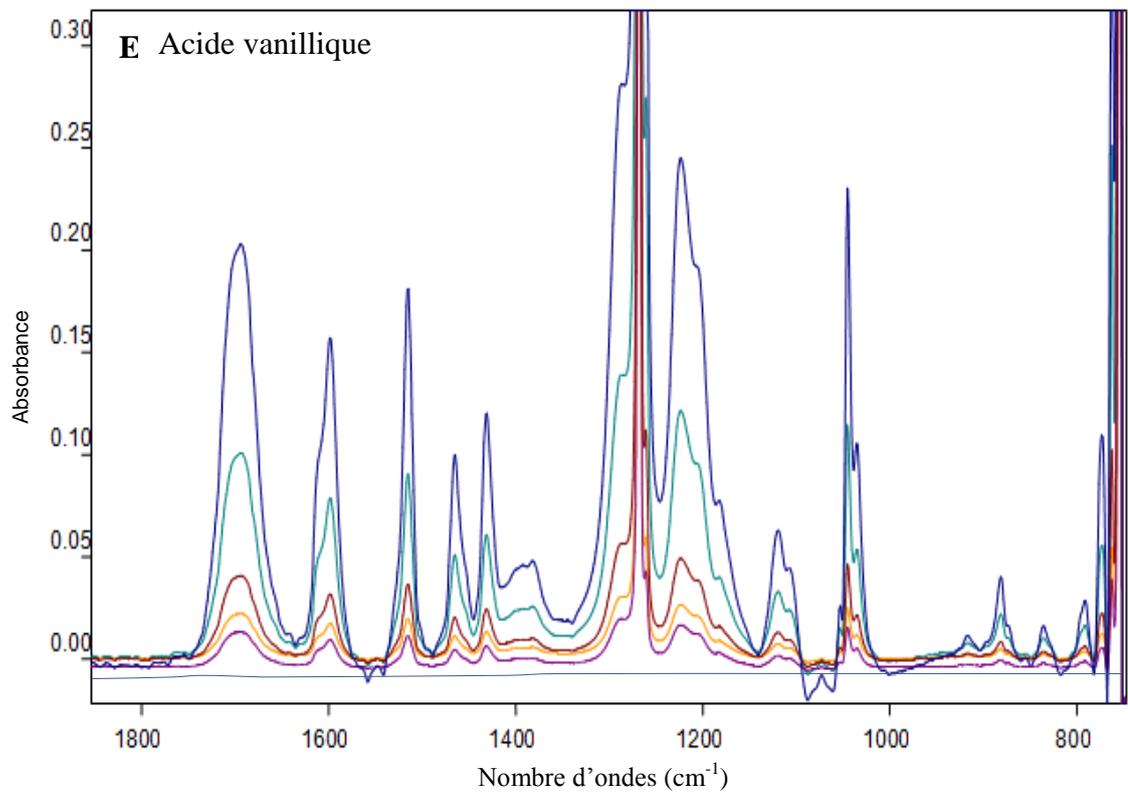
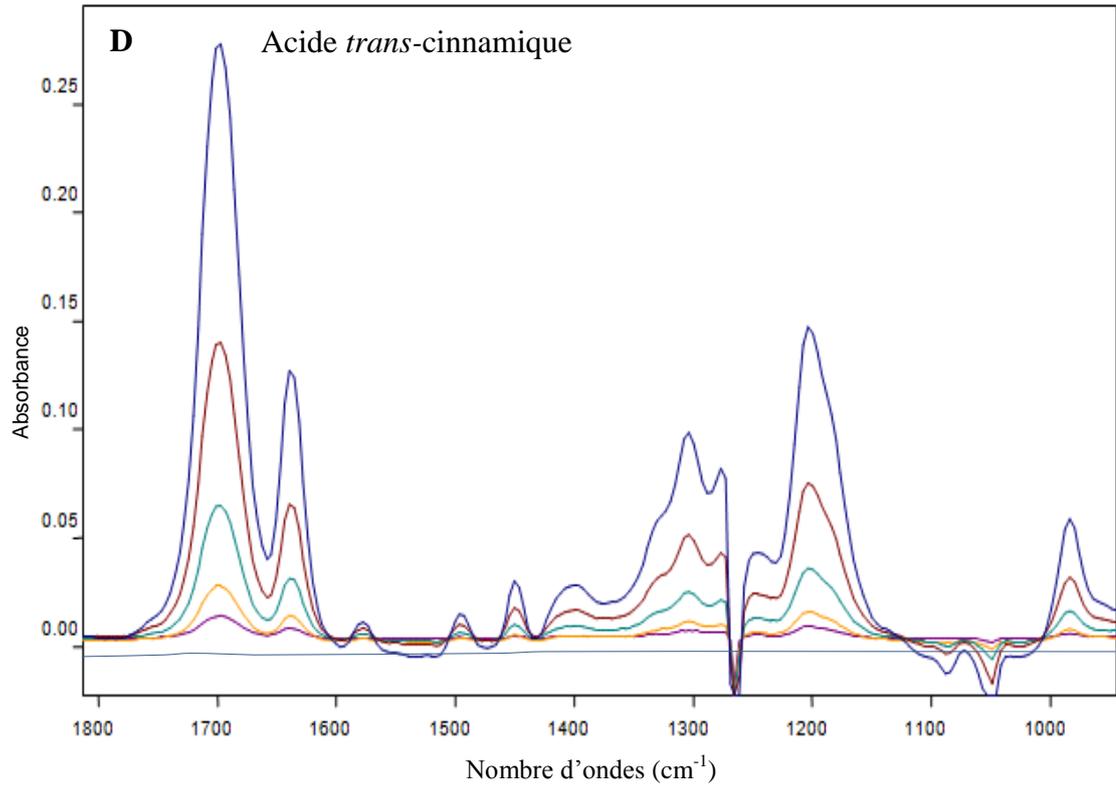
Dans le cas d'un modèle d'étalonnage, la forte corrélation entre la réponse et la concentration ne peut pas être mise en doute puisqu'elle est à la base théorique de la méthode d'analyse employée. C'est pourquoi, le coefficient de corrélation  $r$  est en général très élevé ; il est encore plus élevé si les solutions étalons, choisies par l'expérimentateur, sont regroupées aux deux extrémités du domaine d'étalonnage : il est plus facile de faire passer une droite par deux points. Mais on ne peut pas déduire que de légères variations de  $r$  soient représentatives de la qualité de l'étalonnage, car ce critère est très peu sensible à des variations aléatoires. Il est donc tout à fait illusoire de penser qu'une baisse ou une augmentation du coefficient de corrélation permettra de vérifier si l'étalonnage est correct.

Pour connaître la concentration d'un paramètre, il faut suffisamment diluer l'échantillon, jusqu'à ce que la valeur mesurée soit dans le domaine de linéarité et ne pas oublier de multiplier votre résultat avec le facteur de dilution utilisé durant le dosage de l'échantillon. Si la valeur de dosage, après dilution, se situe en dessous de la limite de détection alors le facteur de dilution est trop grand. Il faudra donc refaire une dilution avec un facteur plus petit.

La Vérification d'une limite de quantification permet de valider une valeur obtenue par approche statistique, ou éventuellement empiriquement. Cette méthode permet de vérifier qu'une limite de quantification donnée *a priori* est acceptable. Elle est applicable quand le laboratoire a la capacité de disposer d'au moins 10 matériaux d'essai comportant des quantités d'analyte connues, se situant au niveau de la limite de quantification estimée. Dans le cas de méthodes au signal spécifique, non sensibles aux effets matrice, ces matériaux pourront être des solutions synthétiques dont la valeur de référence est obtenue par formulation.







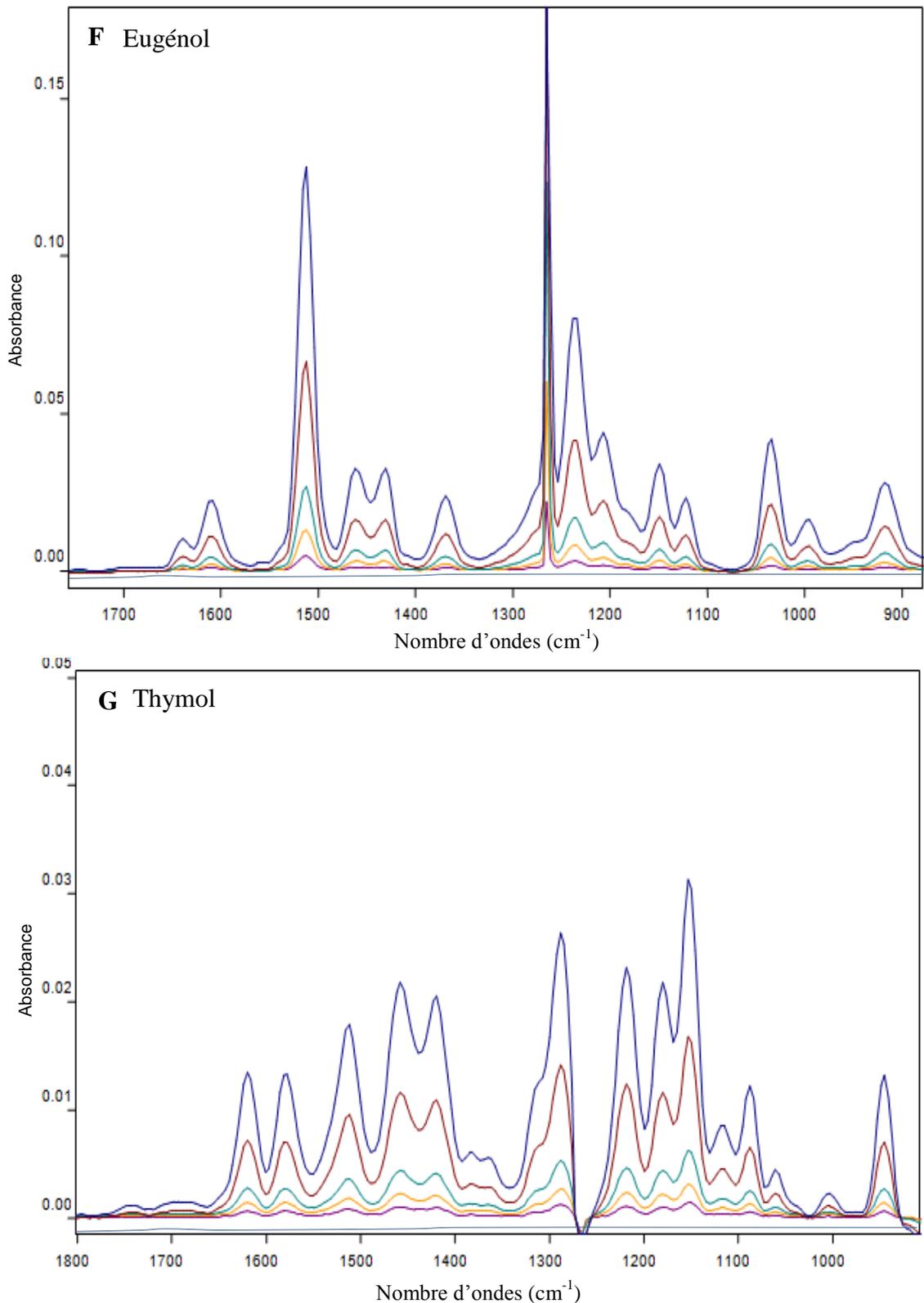


Figure 2.6 : Spectres IRTF-transmission de la série d'étalonnage des 7 standards considérés dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : EtOH (90:10 v/v) dans le domaine de concentrations de 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 et 5.00  $\text{mg mL}^{-1}$ , à savoir ; A) l'acide salicylique, B) l'acide *p*-hydroxybenzoïque, C) l'acide *p*-coumarique, D) l'acide *trans*-cinnamique, E) l'acide vanillique, F) l'eugénol et G) le thymol. Les spectres ont été obtenus avec 25 scans et une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.3.2.1.2 Paramètre analytiques des acides phénoliques et des phénols simple et mono terpénique étudiés

Les paramètres analytiques , à savoir ; la droite de calibration, le coefficient de corrélation (R), la limite de détection, la limite de quantification, la limite standards relative et le domaine linéaire de concentration, de l'acide *p*-hydroxybenzoïque à **1676 cm<sup>-1</sup>**, de l'acide salicylique à **1658 cm<sup>-1</sup>**, l'acide vanillique à **1687 cm<sup>-1</sup>**, de l'eugénol à **1514 cm<sup>-1</sup>**, du thymol à **1622 cm<sup>-1</sup>**, l'acide *p*-coumarique à **1756 cm<sup>-1</sup>**, de l'acide *Trans*-cinnamique à **1691 cm<sup>-1</sup>** ont été étudiés et concis dans le tableau 2.8.



Dans cette partie, différents modèles d'intégration ont été essayés en considérant, notamment, les bandes d'absorbance spécifiques et en tentant de corriger les valeurs des réponses analytiques par le choix de la ligne de base ou du modèles d'intégration intégré.

Les résultats optimisés pour chaque étalon sont résumés dans le tableau 2.8. Il a été observé une faible détérioration du coefficient de corrélation, ceci est dû probablement aux faibles concentrations considérés dans le domaine de concentration linéaire.

Il a été relevé un faible changement de l'allure des spectres IRTF pour les faibles concentrations de certains produits comme le cas de l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de l'acide salicylique. Ce phénomène est considéré comme normal dans la spectroscopie infrarouge et ne présente aucun effet sur la linéarité des réponses analytiques du moment que cette dernière est notée à la fréquence maximale en cas de déplacement.

#### 2.3.2.1.3 Sélection des conditions spectrales

Afin d'obtenir les paramètres analytiques quantitative de chaque étalon, nous allons commencer tout d'abord par une analyse qualitative, optimiser et choisir les conditions spectrales et opératoires à savoir : les bandes de mesures, les modèles d'intégration, la nature des fenêtres, le chemin optique, la résolution et le nombre de balayage.

#### 2.3.2.1.4 Choix des bandes spécifiques pour chaque standard

Pour pouvoir analyser un composé en présence d'autres composés, en utilisant la calibration monovariée, il est nécessaire de trouver sa bande spécifique séparé des bandes des autres et ne présentant que l'eugénol, le thymol, l'acide salicylique, l'acide vanillique, l'acide *p*-coumarique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, aussi qu'une bande commune de ces sept composantes ont été sélectionnées.

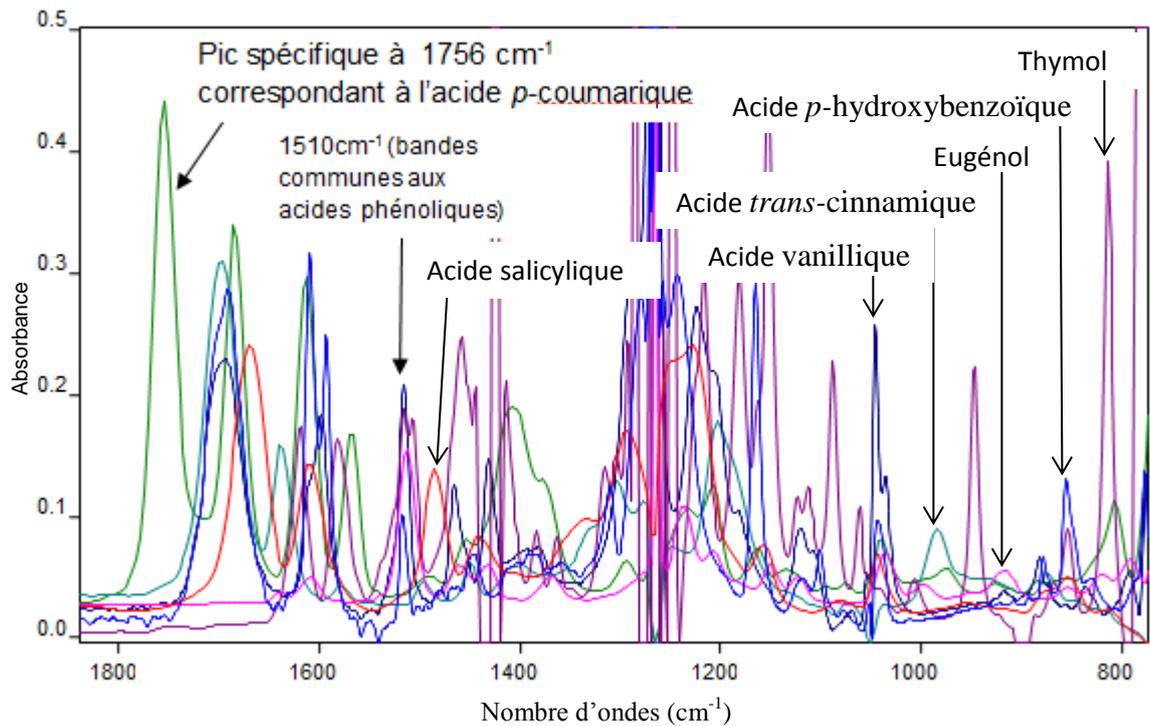


Figure 2.7 : Spectres IRTF/Transmission de sept solutions étalons individuelles : (Bleu) acide *p*-hydroxybenzoïque, (Rouge) acide salicylique, (Rose) eugénol, (Violet) thymol, (Bleu foncé) acide vanillique, (Bleu-vert) acide *trans*-cinnamique, (Vert) acide *p*-coumarique à une concentration de 10 mg.ml<sup>-1</sup> dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: EtOH (90:10 v/v).

D'après le spectre de la figure 2.7, on constate qu'il existe une bande à 1510 cm<sup>-1</sup> commune aux sept étalons utilisés. Elle est caractéristique comme indiqué auparavant à l'élongation du groupement C=C aromatique (la fonction qui existe dans les trois étalons). Cette bande sera exploitée pour la détermination de la fraction phénolique (ceux existant dans les échantillons réels étudiés dans ce travail). L'analyse des spectres IRTF de la figure 2.7 a permis de constater que :

- Les bandes à 1756 cm<sup>-1</sup>, 1658 cm<sup>-1</sup>, 1691 cm<sup>-1</sup>, 1676 cm<sup>-1</sup>, 1687 cm<sup>-1</sup>, 1514 cm<sup>-1</sup>, 1622 cm<sup>-1</sup>, sont des bandes séparées pour l'acide *p*-coumarique, l'acide salicylique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'eugénol et le thymol, respectivement.
- La bande entre 1480 et 1554 cm<sup>-1</sup> est une gamme de fréquence commune des sept étalons.

### 2.3.2.1.5 Sélection des modèles d'intégration

Le logiciel Quant 1 d'OPUS dispose de 19 modèles d'intégration (figure 2.8) et permettant différentes corrections des réponses analytiques expérimentées en termes de hauteur ou aire du pic IR peuvent être utilisé pour la calibration. Ces corrections améliorent la qualité de la droite de calibration et ce, par l'amélioration du coefficient de corrélation,  $r$ , de la sensibilité, de la pente de la droite, et de la réponse du blanc.

Dans cette étude, six modèles ont été testés pour le calcul des intensités des pics. Le modèle R a été choisi pour effectuer la calibration.

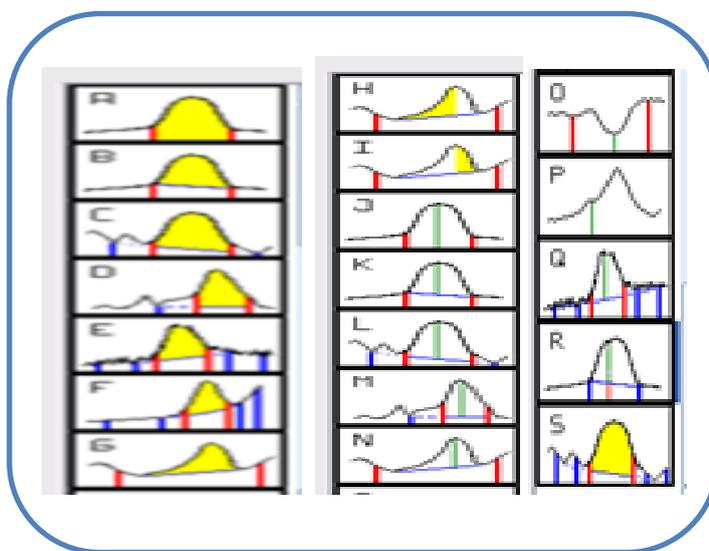


Figure 2.8 : Modèles d'intégration intégrés dans le logiciel Quant 1 de l'OPUS

Nous avons utilisé des fenêtres de BaF<sub>2</sub> avec un chemin optique de 0.1 mm, une résolution nominale de 4 cm<sup>-1</sup> et un nombre de balayage égal à 25 scans.

Les tableaux 2.9.1, 2.9.2 et 2.9.3 regroupe les valeurs de l'ensemble des intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour les sept étalons étudiés, à savoir : l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide *p*-coumarique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide vanillique, l'eugénol et le thymol dans un mélange de solvants de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) (10 mg ml<sup>-1</sup>).

Tableau 2.9.1 : Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.

Mode d'intégration	Intensités (1427-1455 cm <sup>-1</sup> )	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Intensités (1600-1633 cm <sup>-1</sup> )	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Intensités (1423-1457 cm <sup>-1</sup> )	Acide vanillique	Intensités (1600-1630 cm <sup>-1</sup> )	Acide vanillique
<b>J</b>	0.08755	0.42898	0.1620	0.42898	0.1445	0.07780	0.1620	0.31991
<b>K</b>	0.07743	0.40445	0.1595	0.40445	0.1445	0.06551	0.1595	0.30883
<b>L</b>	0.07662	0.40760	0.1595	0.40760	0.1445	0.06275	0.1595	0.30902
<b>M</b>	0.07884	0.40225	0.1595	0.40225	0.1445	0.06465	0.1595	0.30719
<b>N</b>	0.07998	0.40309	0.1595	0.40309	0.1445	0.06331	0.1595	0.30508
<b>R</b>	0.07990	0.40301	0.1595	0.40301	0.1445	0.06299	0.1595	0.30498
<b>J</b>	0.14499	0.34889	0.1595	0.34889	0.1520	0.12881	0.1595	0.23649
<b>K</b>	0.14499	0.32664	0.1595	0.32664	0.1520	0.11882	0.1595	0.22742
<b>L</b>	0.12996	0.32439	0.1595	0.32439	0.1520	0.11779	0.1595	0.22659
<b>M</b>	0.13129	0.32556	0.1595	0.32556	0.1520	0.11571	0.1595	0.22660
<b>N</b>	0.12865	0.32445	0.1595	0.32445	0.1520	0.11490	0.1595	0.22497
<b>R</b>	0.12855	0.32439	0.1595	0.32439	0.1520	0.11445	0.1595	0.22488
<b>J</b>	<b>0.19223</b>					0.32119		
<b>K</b>	<b>0.18138</b>					0.31274		
<b>L</b>	<b>0.18332</b>					0.31551		
<b>M</b>	<b>0.18552</b>					0.31339		
<b>N</b>	<b>0.18119</b>					0.31198		
<b>R</b>	<b>0.18117</b>					0.31113		

Tableau 2.9.2 : Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'eugénole et le thymol.

Mode d'intégration	Eugénole	Intensités	Eugénole	Intensités	Eugénole	Intensités	Thymol	Intensités	Thymol
<b>J</b>	0.04979	<b>1610 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1583-1623 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.06923	<b>1430 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1405-1447 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.05776	<b>1580 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1550-1600 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.04980	<b>1460 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1437-1487 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.06909
<b>K</b>	0.03667		0.05290		0.03779		0.05697		
<b>L</b>	0.03739		0.05348		0.03681		0.05654		
<b>M</b>	0.03446		0.05340		0.03667		0.05640		
<b>N</b>	0.03693		0.05313		0.03598		0.05632		
<b>R</b>	0.03687		0.05479		0.03499		0.05632		
<b>J</b>	0.06743	<b>1475 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1483-1447 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.05479	<b>1370 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1350-1400 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.04991	<b>1515 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1487-1550 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.05872	<b>1423 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1400-1437 cm<sup>-1</sup>)</b>	0.07782
<b>K</b>	0.05579		0.04991		0.04991		0.05691		
<b>L</b>	0.05390		0.04792		0.04418		0.05541		
<b>M</b>	0.05572		0.04494		0.04298		0.05476		
<b>N</b>	0.05122		0.04109		0.04229		0.04791		
<b>R</b>	0.05115		0.04116		0.04222		0.04778		
<b>J</b>	<b>0.20099</b>	<b>1514 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1477-1550 cm<sup>-1</sup>)</b>		<b>1622 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1600-1660 cm<sup>-1</sup>)</b>			<b>0.05588</b>		
<b>K</b>	<b>0.19221</b>				<b>0.04492</b>				
<b>L</b>	<b>0.19387</b>				<b>0.04599</b>				
<b>M</b>	<b>0.19284</b>				<b>0.04190</b>				
<b>N</b>	<b>0.19541</b>				<b>0.04233</b>				
<b>R</b>	<b>0.19402</b>				<b>0.04244</b>				

Tableau 2.9.3 : Intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour l'acide *p*-coumarique, de l'acide *trans*-cinnamique et de l'acide salicylique.

Mode d'intégration	Intensités	Acide salicylique	Intensités	Acide <i>p</i> -coumarique	Intensités	Acide <i>trans</i> -cinnamique	Intensités	Acide <i>trans</i> -cinnamique
<b>J</b>	<b>1607 cm<sup>-1</sup></b> (1567-1630 cm <sup>-1</sup> )	0.07745	<b>1675 cm<sup>-1</sup></b> (1650-1712 cm <sup>-1</sup> )	0.18097	<b>1200 cm<sup>-1</sup></b> (1109-1245 cm <sup>-1</sup> )	0.16791	<b>990 cm<sup>-1</sup></b> (891-1045 cm <sup>-1</sup> )	0.06991
<b>K</b>		0.06789		0.16164		0.14339		0.05509
<b>L</b>		0.06670		0.16229		0.14987		0.05412
<b>M</b>		0.06554		0.16410		0.14882		0.05398
<b>N</b>		0.06566		0.16498		0.14765		0.05366
<b>R</b>		0.06561		0.16477		0.14755		0.05632
<b>J</b>	<b>1490 cm<sup>-1</sup></b> (1457-1517 cm <sup>-1</sup> )	0.07991	<b>1615 cm<sup>-1</sup></b> (1589-1650 cm <sup>-1</sup> )	0.17990	<b>1691 cm<sup>-1</sup></b> (1655-1800 cm <sup>-1</sup> )	<b>0.29820</b>	<b>900 cm<sup>-1</sup></b> (845-891 cm <sup>-1</sup> )	0.01669
<b>K</b>		0.06788		0.15099		<b>0.28301</b>		0.01557
<b>L</b>		0.06889		0.15229		<b>0.28566</b>		0.01544
<b>M</b>		0.06733		0.15530		<b>0.28218</b>		0.01560
<b>N</b>		0.06339		0.15587		<b>0.28553</b>		0.01533
<b>R</b>		0.06334		0.15562		<b>0.28677</b>		0.01526
<b>J</b>	<b>1658 cm<sup>-1</sup></b> (1630-1728 cm <sup>-1</sup> )	<b>0.19441</b>	<b>1756 cm<sup>-1</sup></b> (1720-1800 cm <sup>-1</sup> )	<b>0.20783</b>	<b>1565 cm<sup>-1</sup></b> (1550-1588 cm <sup>-1</sup> ) Acide <i>p</i> -coumarique (suite)	0.09421		
<b>K</b>		<b>0.18677</b>		<b>0.17819</b>		0.08897		
<b>L</b>		<b>0.18990</b>		<b>0.17595</b>		0.08843		
<b>M</b>		<b>0.18531</b>		<b>0.17662</b>		0.08603		
<b>N</b>		<b>0.18540</b>		<b>0.17298</b>		0.08441		
<b>R</b>		<b>0.18634</b>		<b>0.17730</b>		0.08390		

Le tableau 2.10 regroupe les valeurs des intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour les sept étalons étudiés, à savoir : l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide *p*-coumarique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide vanillique, l'eugénol et le thymol à 10 mg/mL dans du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v).

Tableau 2.10 : Valeurs des intensités optimisées des bandes spécifiques sélectionnées pour les sept étalons étudiés.

<b>Etalons</b>	<b>Mode d'intégration</b>	<b>Intensités</b>
<b>Acide <i>p</i>-coumarique</b> <b>1756 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1720-1800 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.20783
	K	0.17819
	L	0.17595
	M	0.17662
	N	0.17298
	R	0.17730
<b>Acide salicylique</b> <b>1658 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1630-1728 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.19441
	K	0.18677
	L	0.18990
	M	0.18531
	N	0.18540
	R	0.18634
<b>Acide <i>trans</i>-cinnamique</b> <b>1691 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1655-1800 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.29820
	K	0.28301
	L	0.28566
	M	0.28218
	N	0.28553
	R	0.28677
<b>Acide <i>p</i>-hydroxybenzoïque</b> <b>1676 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1650-1750 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.19223
	K	0.18138
	L	0.18332
	M	0.18552
	N	0.18119
	R	0.18117

<b>Acide vanillique</b> <b>1687 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1650-1750 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.32119
	K	0.31274
	L	0.31551
	M	0.31339
	N	0.31198
	R	0.31113
<b>Eugénol</b> <b>1514 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1477-1550 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.20099
	K	0.19221
	L	0.19387
	M	0.19284
	N	0.19541
	R	0.19402
<b>Thymol</b> <b>1622 cm<sup>-1</sup></b> <b>(1600-1660 cm<sup>-1</sup>)</b>	J	0.05588
	K	0.04492
	L	0.04599
	M	0.04190
	N	0.04233
	R	0.04244

D'après les résultats indiqués dans le tableau 2.10, on remarque qu'avec les fenêtres de BaF<sub>2</sub> on a obtenu des faibles intensités pour la bande choisie du thymol et de bonnes intensités aux bandes choisies pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'acide salicylique, l'acide *p*-coumarique, l'acide *trans*-cinnamique, l'acide vanillique ainsi que l'eugénol. Pour pallier à cette défaillance on peut penser à changer les fenêtres de la cellule de flux ainsi que le chemin optique par exemple.

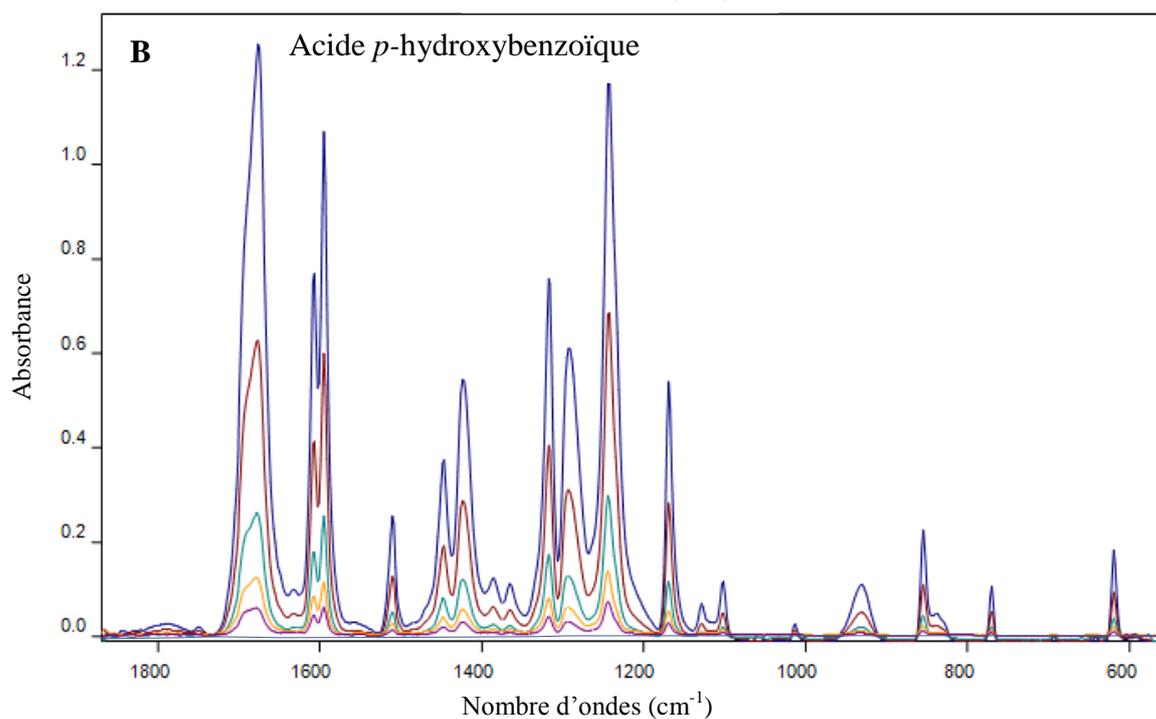
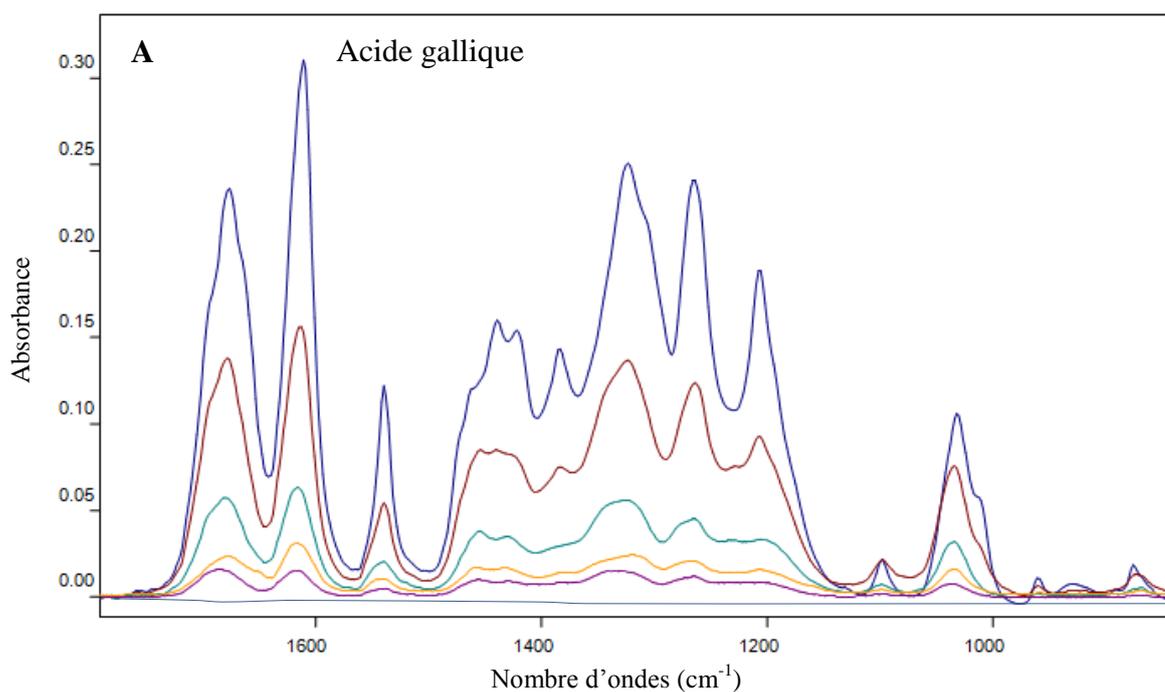
### 2.3.2.2 Calibration monovariée en mode ATR-IRTF

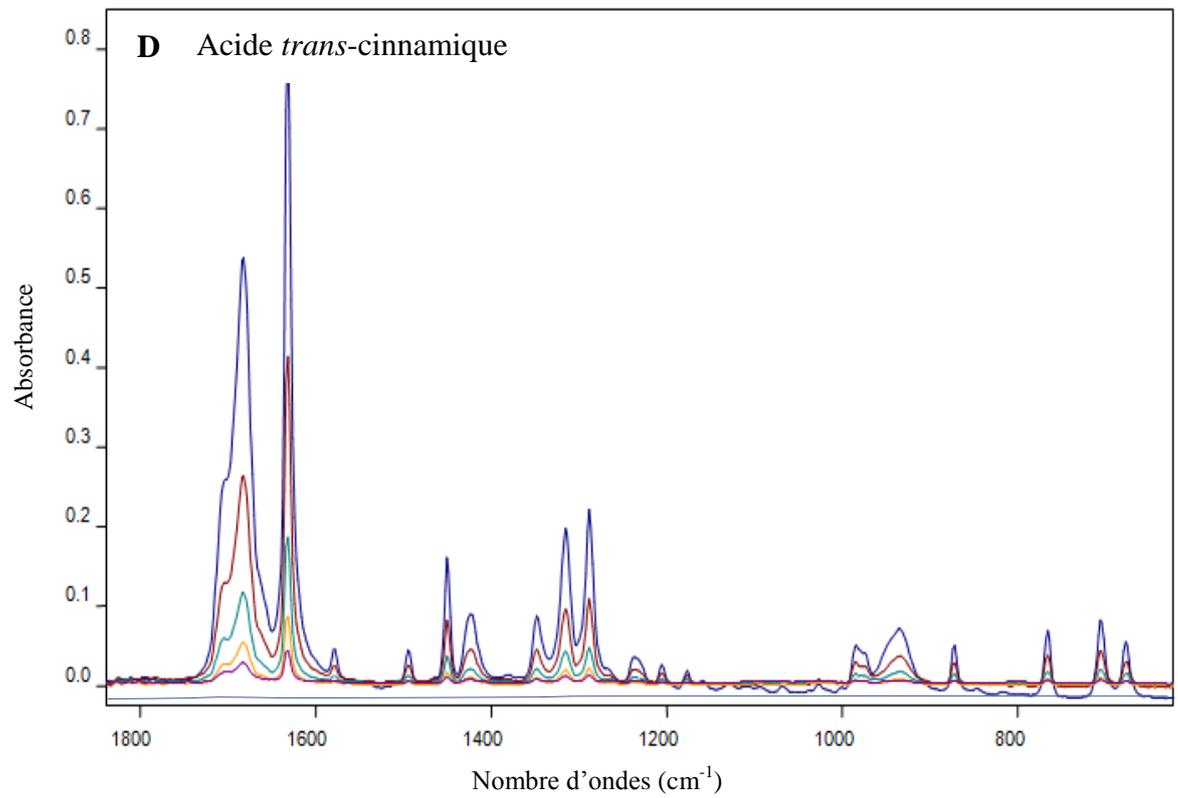
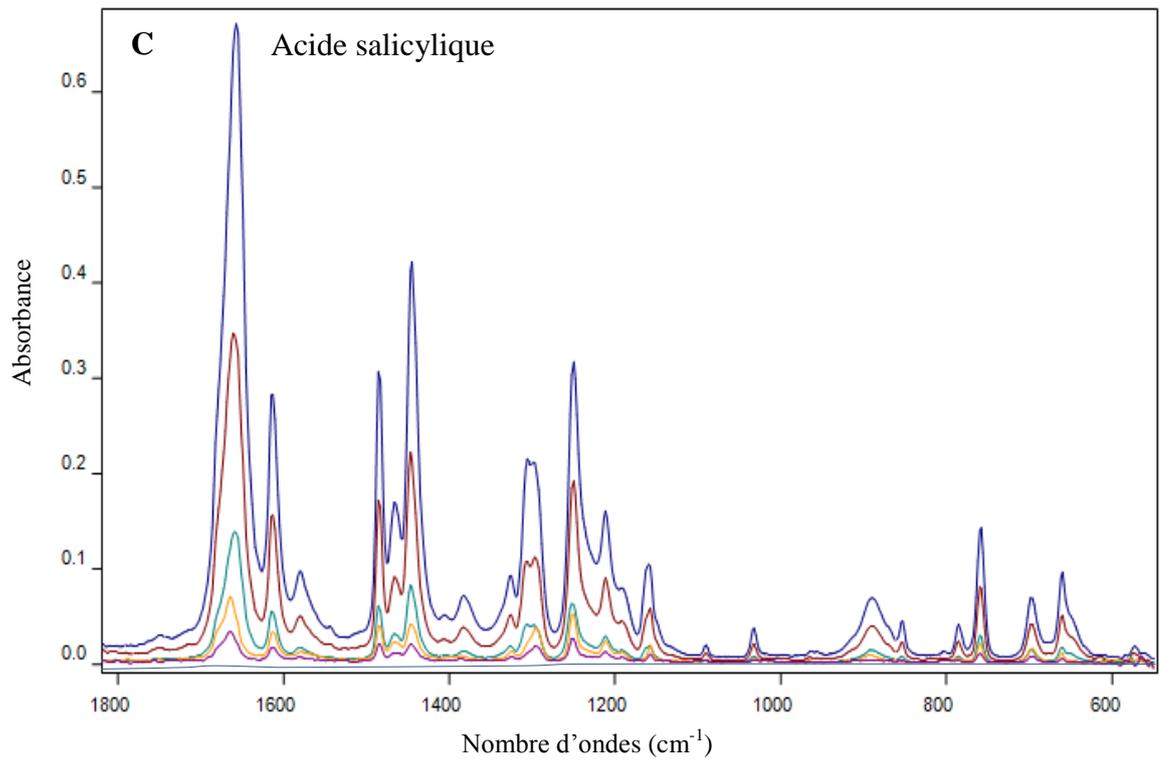
#### 2.3.2.2.1 Calibration monovariée des acides phénolique ainsi que des phénols simples et mono terpénique

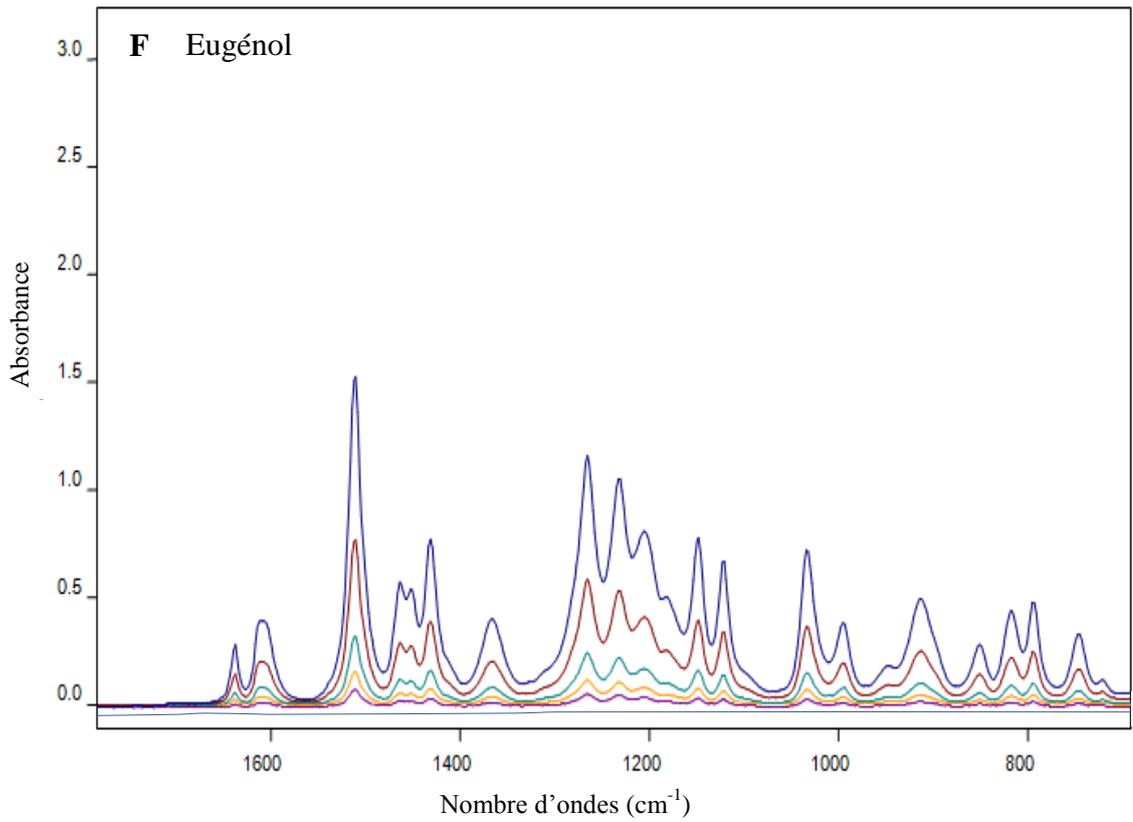
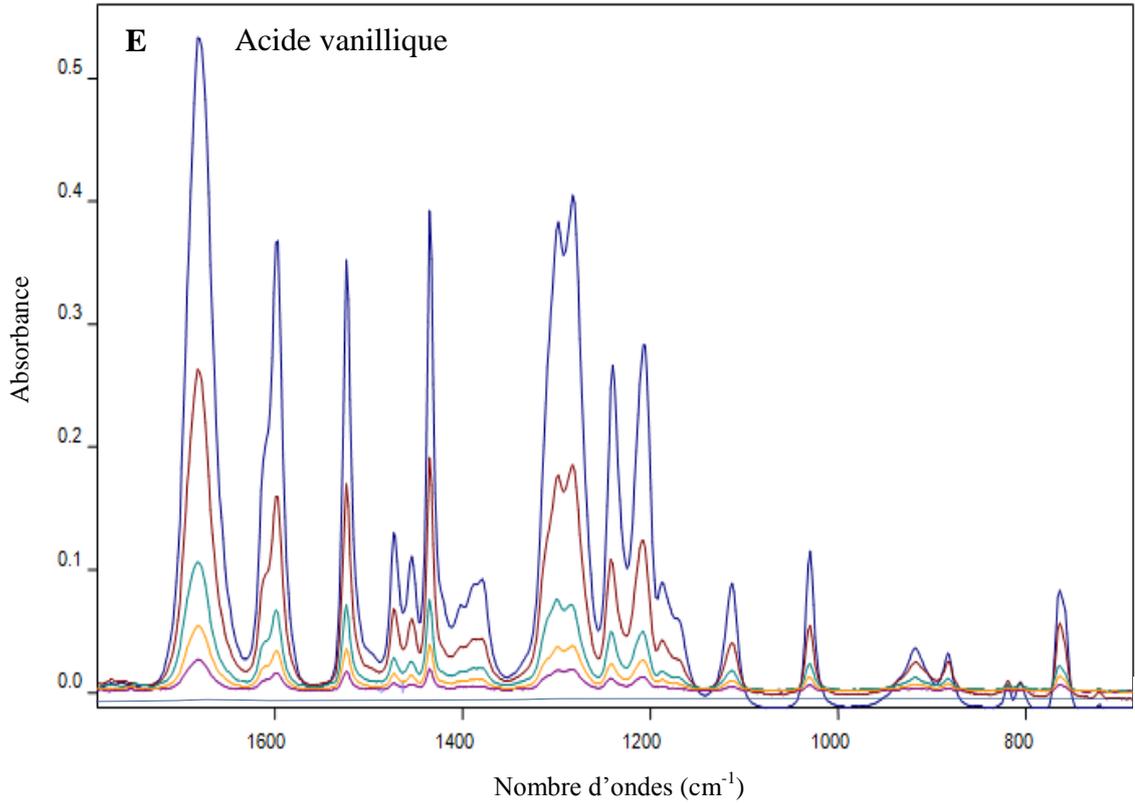
L'exploitation des spectres (figure 2.9) de l'acide *p*-hydroxybenzoïque, de l'acide salicylique, de l'acide *trans*-cinnamique, de l'acide de l'acide gallique, de l'acide vanillique, de l'eugénol et du thymol dilués dans le CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH ((90:10 v/v), à

différentes concentrations à savoir ; ( $S_1 = 0.25 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_2 = 0.50 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_3 = 1.00 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_4 = 2.50 \text{ mg mL}^{-1}$ ;  $S_5 = 5.00 \text{ mg mL}^{-1}$ ), ainsi que les spectres de 10 blancs, ont été réalisés en utilisant le logiciel intégré pour déterminer les paramètres analytiques optimaux.

Pour chaque point max nous avons procédé à une calibration, et nous avons exploité la droite pour acquérir des résultats fiables, une optimisation est parfois nécessaire pour avoir un domaine où tous les point passe par la droite de calibration.







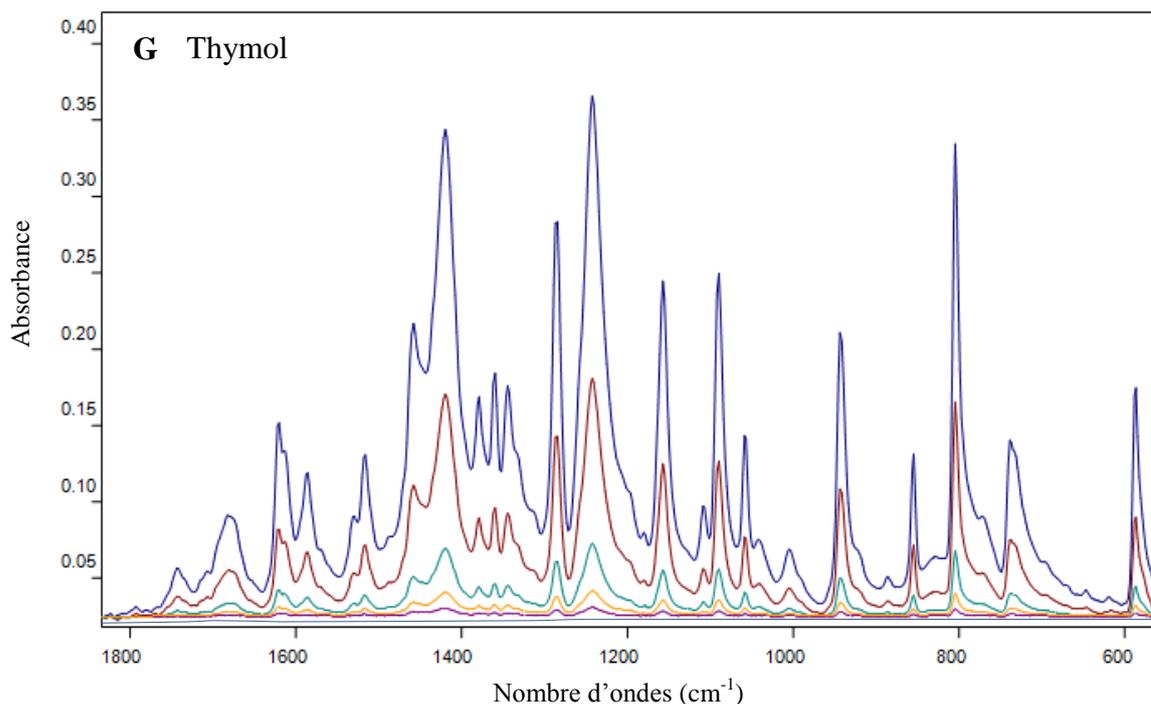


Figure 2.9 : Spectres ATR-IRTF de la série d'étalonnage des 7 standards considérés dans l'EtOH dans le domaine de concentrations de 0.25, 0.50, 1.00, 2.50 et 5.00 mg mL<sup>-1</sup>, à savoir ; A) l'acide gallique, B) l'acide *p*-hydroxybenzoïque, C) l'acide salicylique, D) l'acide *trans*-cinnamique, E) l'acide vanillique, F) l'eugénol et G) le thymol. Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>.

#### 2.3.2.2.2 Paramètres analytiques des acides phénoliques et des phénols simple et mono terpénique étudiés

Les paramètres analytiques, à savoir ; la droite de calibration, le coefficient de corrélation (*R*), la limite de détection, la limite de quantification, la limite standards relative et le domaine linéaire de concentration, de l'acide *p*-hydroxybenzoïque à 1676 cm<sup>-1</sup>, de l'acide salicylique à 1670 cm<sup>-1</sup>, l'acide vanillique à 1687 cm<sup>-1</sup>, de l'eugénol à 1514cm<sup>-1</sup>, du thymol à 1021 cm<sup>-1</sup>, l'acide gallique à 1611 cm<sup>-1</sup>, de l'acide *trans*-cinnamique à 1633cm<sup>-1</sup> ont été étudié et concis dans le tableau 2.11.



D'après les résultats obtenus lors de la calibration monovariée que ce soit pour la transmission-IRTF et l'ATR-IRTF, bien qu'elle soit sensible et qu'elle fournit un bon nombre de paramètres analytiques, il existe un doute sur la spécificité de cette méthode à cause des perturbations causées par des composants inconnus supplémentaires ne sont pas reconnues car la concentration de l'analyte est déterminée en un seul point spectral.

Le tableau 2.12 montre que les taux d'erreur obtenus sont très élevés, par rapport à la normale tolérée (tolérance entre 1 à 5%), ces résultats étaient attendus étant donné qu'aucun étalon ne peut représenter le mélange d'où les limites de l'étalonnage univarié qui peut être utile lors d'un test à un seul composant ou lorsque le standard est majoritaire. Dans ce cas, un étalonnage multivarié est nécessaire pour la détermination des composés dans un mélange à des proportions différentes.

Tableau 2.12 : Analyse d'échantillons synthétiques par mesures MIR-Transmission et MIR-ATR.

Mesure	Mélanges synthétiques	Ajouté mg ml <sup>-1</sup>	calculé mg ml <sup>-1</sup>	Er %
MIR-Transmission	Acide salicylique	0.6	1.25	108
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	2.0	2.54	26.8
	Acide vanillique	3.0	3.93	31.2
	Acide salicylique	0.5	0.17	-65.6
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.6	0.08	-85.9
	Acide <i>trans</i> -cinnamique	0.7	0.06	-90.6
	Acide <i>p</i> -coumarique	0.8	0.08	-89.6
MIR-ATR	Acide salicylique	1.0	1.88	88.0
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	1.5	2.14	42.7
	Acide vanillique	1.4	0.64	-54.3
	Acide salicylique	0.5	0.98	96.0
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.6	0.31	-48.3
	Eugénol	0.7	0.21	-70.0
	Thymol	0.8	0.42	-47.5

### 2.3.3 Calibration multivariée PLS-IRTF

L'objectif de cette partie expérimentale est de tester les trois stratégies de calibration multivariée PLS-IRTF en mesurant en mode transmission et en ATR comme ça a été expliqué dans la section 2.2.4.2 afin de vérifier l'effet de la composante de la matrice de calibration sur les paramètres de la prédiction.

#### 2.3.3.1 Calibration multivariée PLS-Transmission-IRTF

##### 2.3.3.1.1 Calibration multivariée PLS-Transmission-IRTF des acides phénoliques de la même classe

Nous avons commencé par la construction d'une matrice de calibration à base de mélanges de trois acides phénoliques appartenant à la même classe des acides hydroxybenzoïques à savoir ; l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique.

Un plan expérimental à  $2^3$  trois composés à deux niveaux de concentration a été établi pour modéliser avec la PLS les données spectrales IRTF. Les régions spectrales suivantes montrées sur la figure 2.10 à  $1765-1565\text{ cm}^{-1}$ ,  $1566-1354\text{ cm}^{-1}$ ,  $1176-1139\text{ cm}^{-1}$  et  $892-845\text{ cm}^{-1}$ , pour les mesures de transmission IRTF, ont été utilisées en employant la correction de d'Offset, la soustraction d'une droite dérivée première et seconde dérivée comme prétraitement spectraux. Les meilleurs modèles ont été développés pour chaque composé. Afin de sélectionner le meilleur modèle, pour chaque standard, nous avons exploité la capacité prédictive du modèle pour déterminer d'autres paramètres analytiques relatifs à RMSEP et  $R^2_p$ . Pour cela, cinq échantillons synthétiques avec des concentrations d'acide salicylique de 0,57 à 3,06, d'acide *p*-hydroxybenzoïque de 0,7 à 2,26 et d'acide vanillique de 0,38 à 1.23 ont été introduits dans la matrice de calibration, déjà établie, et utilisés en tant qu'échantillons afin de tester la fidélité du modèle.

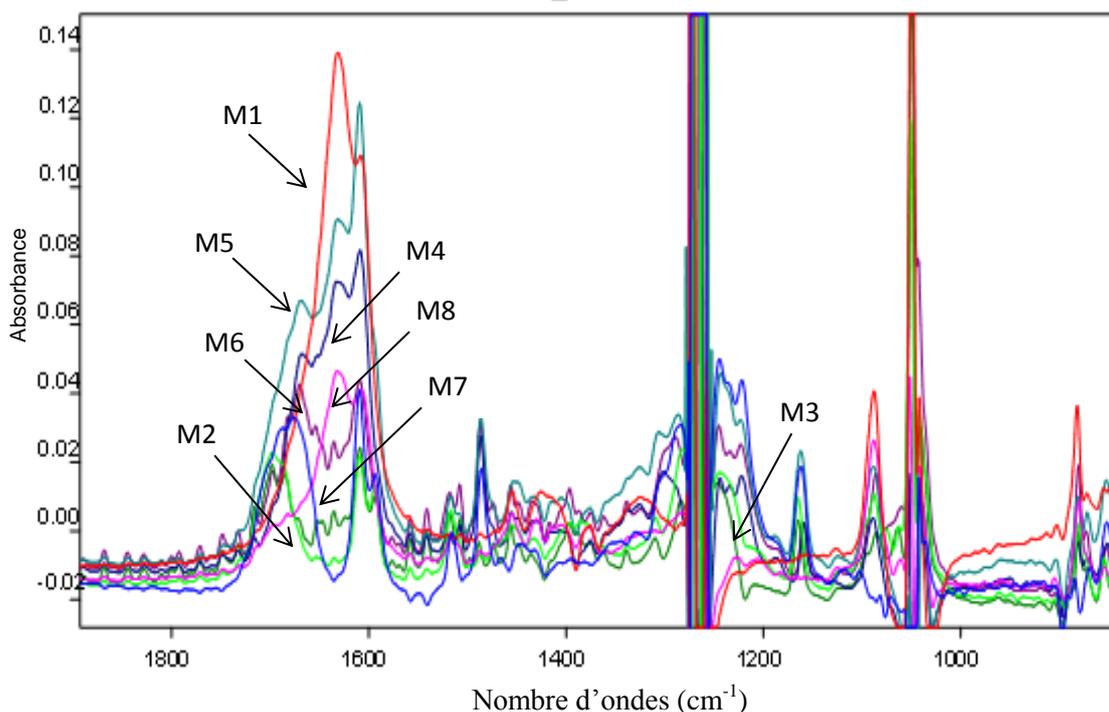


Figure 2.10 : Spectres PLS-FTIR-Transmission des acides phénoliques de même classe (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque et acide vanillique) des huit mélanges de la calibration préparés dans un mélange de solvants de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  ((90:10 v/v). Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

Les modèles sélectionnés ainsi que les paramètres de validation sont résumés dans les tableaux de 2.13 à 2.15 pour les trois étalons. Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction *RMSEP*, de la calibration *RMSEE*, de la validation *RMSECV*, la variante latente (*LV*) ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (*RMSEP*) avec la valeur la plus fiable, fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqués en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

A) Acide *para*-hydroxybenzoïqueTableau 2.13 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par PLS- transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2422	95.95	0.3040	94.67	0.4476	92.72	
		5	0.2309	95.97	0.3792	94.81	0.4423	92.78	
		6	0.2285	95.98	0.3421	94.95	0.4580	92.58	
	1766-1354 892-845	4	0.2542	95.91	0.3100	94.63	0.4366	92.83	
		5	0.2429	95.95	0.3050	94.66	0.4578	92.58	
		6	0.2151	95.99	0.3680	94.86	0.4570	92.59	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2392	95.96	0.3996	93.69	0.4387	92.81	
		5	0.2291	95.98	0.3835	94.56	0.4439	92.79	
		6	0.2252	95.98	0.3395	94.45	0.4595	92.55	
	Correction d'offset	1766-1354 1176-1139 892-845	4	0.2419	95.97	0.3050	94.88	0.3576	93.58
			5	0.2238	95.98	0.3523	94.44	0.3411	93.79
			6	0.2217	95.99	0.3320	94.61	0.3343	93.85
1766-1354 892-845		4	0.2483	95.93	0.3070	94.65	0.3480	93.71	
		5	0.2309	95.97	0.3939	93.73	0.3322	93.87	
		6	0.2275	95.98	0.3436	94.44	0.3501	93.68	
1766-1354 1175-1139		4	0.2360	95.96	0.3984	93.70	0.3431	93.77	
		5	0.2221	95.99	0.3794	93.81	0.3320	93.87	
		6	0.2216	95.99	0.3331	93.97	0.3367	93.83	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1176-1139 892-845	4	0.3328	94.88	0.3663	93.86	0.3942	92.88
			5	0.3232	94.98	0.3539	93.91	0.3796	93.20
			6	0.3181	94.99	0.3285	93.99	0.3365	93.83
	1766-1354 892-845	4	0.2959	94.94	0.3849	93.78	0.3260	93.99	
		5	0.2916	94.97	0.3714	93.84	0.3096	94.24	
		6	0.2907	94.98	0.3396	93.95	0.3040	94.31	
	1766-1354 1176-1139	4	0.3051	94.88	0.3668	93.86	0.3959	92.84	
		5	0.3155	94.98	0.3550	93.91	0.3806	92.98	
		6	0.3004	95.19	0.3306	93.97	0.3364	93.83	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2214	96.90	0.2319	94.07	0.2418	94.78
	1176-1139	5	0.2112	96.98	0.2228	94.33	0.2439	94.76
	892-845	6	0.2110	96.98	0.2253	94.46	0.2430	94.77
	1766-1354	4	0.2369	95.66	0.2543	92.91	0.2511	94.67
	892-845	5	0.2139	95.99	0.2356	93.90	0.2433	94.76
		6	0.2130	95.99	0.2278	93.98	0.2397	94.80
	1766-1354	4	0.2236	96.86	0.2347	93.98	0.2427	94.77
	1176-1139	5	0.2114	96.79	0.2220	94.54	0.2441	94.76
		6	0.2108	96.79	0.2266	94.54	0.2435	94.76
Dérivée seconde	<b>1176-1139</b>	<b>4</b>	<b>0.0916</b>	<b>99.60</b>	<b>0.1340</b>	<b>99.02</b>	<b>0.1040</b>	<b>96.67</b>
	<b>892-845</b>	5	0.1209	98.77	0.2441	93.01	0.1914	95.70
		6	0.2021	97.09	0.2970	93.87	0.2470	94.72
	1766-1564	4	0.1640	99.01	0.1869	98.10	0.1581	94.38
	1175-1139	5	0.1641	99.01	0.1877	98.08	0.1945	93.43
	892-845	6	0.1651	98.97	0.1898	98.04	0.1922	93.03
	1766-1354	4	0.1434	99.44	0.1720	98.99	0.2512	99.67
	1175-1139	5	0.1558	99.40	0.1837	98.68	0.2685	99.70
		6	0.1598	99.35	0.1944	98.57	0.2769	99.72
Dérivée première+ soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.1869	98.98	0.2202	93.34	0.2439	94.80
	1175-1139	5	0.1922	97.44	0.2359	93.10	0.2444	94.77
	892-845	6	0.2119	97.01	0.2383	93.10	0.2445	94.77
	1766-1354	4	0.1888	94.96	0.2072	93.90	0.2442	94.75
	892-845	5	0.1838	95.04	0.2047	93.96	0.2411	94.79
		6	0.1832	95.04	0.2044	93.97	0.2416	94.80
	1766-1354	4	0.2092	97.08	0.2427	93.04	0.2456	94.74
	1175-1139	5	0.1931	97.33	0.2201	93.15	0.2444	94.75
		6	0.1915	97.39	0.2185	93.19	0.2420	94.78

*B) Acide vanillique*

Tableau 2.14 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide vanillique par PLS- transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1978	97.51	0.2580	95.64	0.2380	58.16	
		5	0.1589	97.82	0.2460	95.83	0.2915	56.19	
		6	0.1541	97.85	0.2520	95.73	0.2641	56.60	
	1766-1354 892-845	4	0.1020	98.47	0.2590	95.61	0.2210	58.60	
		5	0.1812	97.67	0.2480	95.80	0.2260	58.46	
		6	0.1739	97.73	0.2030	97.73	0.2909	56.20	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1917	97.57	0.2500	95.77	0.2490	57.86	
		5	0.1579	97.83	0.2390	95.95	0.2912	56.20	
		6	0.1539	97.85	0.2560	95.67	0.2738	56.48	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1981	97.41	0.2490	96.78	0.2400	58.11
			5	0.1461	97.89	0.2270	97.12	0.2090	59.05
			6	0.1441	97.90	0.2962	95.49	0.2753	56.95
1766-1354 892-845		4	0.1981	97.41	0.2490	96.78	0.2370	58.19	
		5	0.1711	97.81	0.2260	97.12	0.2120	58.79	
		6	0.1662	97.98	0.2600	95.77	0.2070	58.90	
1766-1354 1175-1139		4	0.1912	97.67	0.2410	96.91	0.2460	57.95	
		5	0.1489	97.88	0.2190	96.22	0.2070	98.90	
		6	0.1468	97.89	0.2200	97.21	0.2784	57.14	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1701	97.65	0.2941	95.51	0.2350	58.23	
		5	0.1600	97.82	0.2968	95.49	0.2910	56.20	
		6	0.1518	97.87	0.2170	96.25	0.2280	58.42	
	1766-1354 892-845	4	0.1855	97.62	0.2120	96.32	0.2730	57.12	
		5	0.1723	97.73	0.2160	96.26	0.2220	58.56	
		6	0.1628	97.80	0.2420	96.89	0.2340	58.27	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1749	97.71	0.2010	97.44	0.2460	57.95	
		5	0.1643	97.79	0.2030	97.41	0.2968	56.10	
		6	0.1558	97.84	0.2270	97.12	0.2330	58.29	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1387	98.21	0.2478	95.77	0.2828	56.34	
		5	0.1279	98.96	0.2481	95.77	0.2866	56.28	
		6	0.1253	98.97	0.2648	95.61	0.2130	58.80	
	1766-1354 892-845	4	0.1543	97.85	0.2669	95.55	0.2020	59.00	
		5	0.1341	98.84	0.2757	95.44	0.2954	56.12	
		6	0.1302	98.95	0.2754	95.44	0.2300	58.37	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1424	97.91	0.2539	95.84	0.2130	58.80	
		5	0.1308	98.95	0.2598	95.80	0.2070	58.91	
		6	0.1250	99.79	0.2696	95.73	0.2270	58.46	
	Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1150	98.32	0.2450	95.85	0.2600	57.59
			5	0.0877	98.96	0.2585	95.81	0.2980	56.13
			6	0.0833	98.97	0.2552	95.83	0.3050	56.21
1766-1354 892-845		4	0.1210	98.27	0.2525	95.80	0.2690	57.29	
		5	0.0899	98.97	0.2517	95.80	0.2050	58.98	
		6	0.0862	98.99	0.2582	95.71	0.2220	58.61	
1766-1354 1175-1139		4	0.1310	98.22	0.2660	95.49	0.2710	57.20	
		5	0.0807	98.95	0.2551	95.86	0.2090	58.88	
		6	0.0848	98.91	0.2667	95.46	0.2100	58.86	
Dérivée première + soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.0533	99.30	0.2539	95.84	0.2975	57.08
			5	0.0503	99.33	0.2675	95.75	0.2949	57.13
			6	0.0561	99.39	0.2583	95.81	0.2240	58.52
	1766-1354 892-845	4	0.0546	99.21	0.2677	95.71	0.2110	58.81	
		5	0.0542	99.21	0.2604	95.71	0.2030	58.97	
		6	0.0494	99.30	0.1952	95.89	0.2360	58.21	
	<b>1566-1354</b> <b>1176-1139</b>	5	0.0499	99.32	0.2019	95.78	0.2130	58.29	
		6	0.0444	99.44	0.1986	95.84	0.2040	58.62	
		7	<b>0.0389</b>	<b>99.85</b>	<b>0.1660</b>	<b>96.59</b>	<b>0.1730</b>	<b>62.80</b>	

### C) Acide salicylique

Tableau 2.15 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide salicylique par PLS- transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1245	99.42	0.2474	94.72	0.2370	93.19	
		5	0.1141	99.55	0.2380	94.82	0.2297	93.48	
		6	0.1127	99.58	0.2284	94.90	0.2359	93.24	
	1766-1354 892-845	4	0.1249	99.41	0.2450	94.75	0.2471	92.70	
		5	0.1150	99.51	0.2400	94.80	0.2338	93.33	
		6	0.1146	99.52	0.2376	94.83	0.2337	93.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1228	99.44	0.2430	94.77	0.2418	92.98	
		5	0.1131	99.57	0.2361	94.84	0.2341	93.32	
		6	0.1128	99.57	0.2376	94.89	0.2357	93.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1257	99.41	0.2484	94.71	0.2327	93.37
			5	0.1152	99.51	0.2355	94.84	0.2290	93.51
			6	0.1123	99.54	0.2224	94.94	0.2386	93.13
1766-1354 892-845		4	0.1245	99.42	0.2435	94.77	0.2439	92.87	
		5	0.1145	99.54	0.2367	94.83	0.2364	93.22	
		6	0.1136	99.55	0.2286	94.90	0.2386	93.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.1230	99.44	0.2424	94.78	0.2369	93.20	
		5	0.1143	99.55	0.2342	94.86	0.2317	93.41	
		6	0.1125	99.58	0.2218	94.94	0.2376	93.17	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1349	99.30	0.2611	93.16	0.2220	95.21
			5	0.1148	99.51	0.2561	93.61	0.2374	93.18
			6	0.1144	99.52	0.2329	94.87	0.2380	93.15
	1766-1354 892-845	4	0.1371	99.26	0.2637	93.50	0.2330	93.69	
		5	0.1162	99.48	0.2601	93.55	0.2393	93.10	
		6	0.1157	99.48	0.2369	93.83	0.2409	93.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1344	99.30	0.2611	93.54	0.2200	95.54	
		5	0.1150	99.51	0.2563	93.61	0.2377	94.17	
		6	0.1146	99.52	0.2338	94.86	0.2386	94.18	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.1314	99.36	0.2433	93.77	0.2799	92.16
	1175-1139	5	0.1164	99.48	0.2376	94.83	0.2519	93.42
	892-845	6	0.1147	99.51	0.2406	93.80	0.2470	93.70
	1766-1354 892-845	4	0.1349	99.30	0.2479	93.72	0.2896	92.07
		5	0.2180	98.56	0.2434	93.77	0.2515	93.45
		6	0.1168	99.48	0.2449	93.75	0.2566	93.12
	1766-1354 1175-1139	4	0.1296	99.39	0.2403	93.80	0.2684	92.26
		5	0.1171	99.48	0.2380	94.82	0.2511	93.47
		6	0.1160	99.48	0.2426	93.78	0.2558	93.17
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.0905	99.78	0.2729	92.34	0.2116	94.07
	1175-1139	5	0.0951	99.61	0.2890	92.02	0.2908	92.07
	892-845	6	0.0932	99.68	0.2356	94.84	0.2381	94.15
	<b>1566-1354 892-845</b>	<b>4</b>	<b>0.0760</b>	<b>99.84</b>	<b>0.1930</b>	<b>98.85</b>	<b>0.1950</b>	<b>94.61</b>
		5	0.0938	99.68	0.2899	92.10	0.2737	92.81
		6	0.1133	99.62	0.2357	94.84	0.2420	93.97
	<b>1566-1354</b>	<b>3</b>	<b>0.0637</b>	<b>99.89</b>	<b>0.1750</b>	<b>99.05</b>	<b>0.1820</b>	<b>95.28</b>
		4	0.0935	99.68	0.2868	92.07	0.2808	92.17
		5	0.0929	99.68	0.2358	94.84	0.2377	94.17
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.1321	99.44	0.2438	93.76	0.2793	92.31
	1175-1139	5	0.1174	99.57	0.2405	93.80	0.2499	93.54
	892-845	6	0.1163	99.57	0.2430	93.77	0.2541	93.28
	1766-1354 892-845	4	0.1333	99.42	0.2454	93.75	0.2807	92.18
		5	0.1183	99.57	0.2429	93.77	0.2496	93.55
		6	0.1169	99.57	0.2445	93.76	0.2578	93.04
	1766-1354 1175-1139	4	0.1313	99.50	0.2423	93.78	0.2718	92.98
		5	0.1182	99.57	0.2409	93.79	0.2506	93.49
		6	0.1169	99.57	0.2444	93.76	0.2582	93.01

Le tableau 2.16 regroupe les modèles sélectionnés pour chaque standard pour l'analyse postérieure des échantillons réels par spectrométrie IRTF en exploitant la calibration multivariée PLS des spectres obtenus en mode transmission.

Tableau 2.16 : Récapitulatif des meilleurs modèles optimisés pour l'analyse des acides phénoliques de mêmes classes (les acides hydroxybenzoïques) par PLS-transmission-IRTf.

Composés	Traitements spectrales	Model sélectionné	Région spectrale $\text{cm}^{-1}$	LV	$RMSEE$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Cal}$	$RMSECV$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{CV}$	$RMSEP$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Pred}$
Acide salicylique	Dérivée seconde	Mod.1	1566-1354 892-845	4	0.0760	99.84	0.193	98.85	0.195	94.61
		Mod.2	1566-1354	3	0.0637	99.89	0.175	99.05	0.182	95.28
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Dérivée seconde	Mod.3	1176-1139 892-845	4	0.0916	99.6	0.134	99.02	0.104	96.67
Acide vanillique	Première dérivée + soustraction d'une ligne	Mod.4	1566-1354 1176-1139	7	0.0389	99.85	0.166	96.59	0.173	62.80

Note: Erreur quadratique moyenne de calibration (RMSEE), validation croisée (RMSECV) et prédiction (RMSEP), LV (variable latente). La prédiction des échantillons contient de 0,57 à 3,06 d'acide salicylique, de 0,7 à 2,26 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de 0,38 à 1,23 d'acide vanillique.

### 2.3.3.1.2 Calibration multivariée FTIR-Transmission-PLS des acides phénoliques de différentes classes (mélange d'acides hydroxybenzoïques et de phénols mono terpéniques)

Dans le même ordre d'idées que la section 2.3.3.1.1, un ensemble réduit avec un design de  $2^4$ , correspondant cette fois-ci aux quatre composés appartenant à deux classes d'acides phénoliques à savoir ; les acides hydroxybenzoïques, phénol simple et phénol mono terpénique (acide salicylique, acide p-hydroxybenzoïque, eugénol et thymol) à deux niveaux de concentration a été conçu. Différents prétraitements de données comme la correction d'offset, la soustraction d'une ligne droite, la première dérivée et la seconde dérivée ont été étudiés. Dans cette étude nous avons optimisé tous ces paramètres et les résultats sont résumés dans les tableaux de 2.17 à 2.20 pour les quatre étalons. Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction *RMSEP*, de la calibration *RMSEE*, de la validation *RMSECV*, la variante latente (LV) ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (*RMSEP*), fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqué en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

Les régions spectrales à  $1687-1605\text{ cm}^{-1}$ ,  $1473-1352\text{ cm}^{-1}$  et  $908-856\text{ cm}^{-1}$  ont été testées pour les mesures de transmission-IRTF (tableau 2.21 et figure 2.11). Les meilleurs modèles ont été choisis en tenant compte de la capacité prédictive d'un ensemble de mélanges synthétiques des quatre composés considérés.

Les coefficients de régression linéaire élevés associés à un *RMSEP* faible et un *RMSECV* faible témoignent de la robustesse des modèles construits.

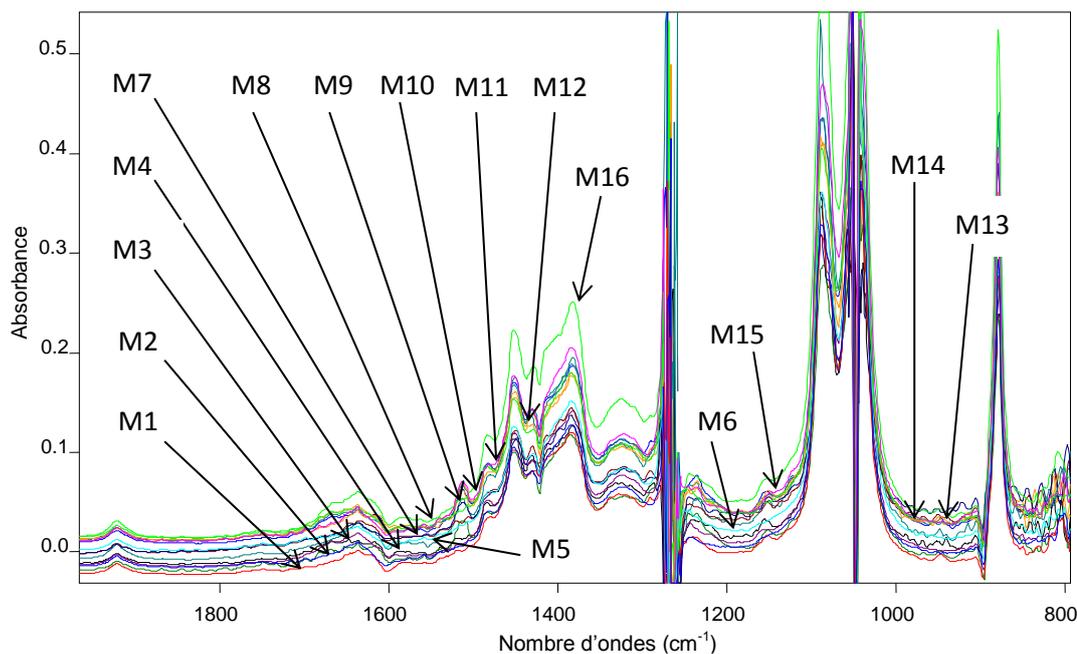


Figure 2.11 : Spectres PLS-IRTF-Transmission des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque, eugénol et thymol) des seize mélanges de calibration préparés dans un mélange de solvants de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  ((90:10 v/v). Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

#### A) Acide *para*-hydroxybenzoïque

Tableau 2.17 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139	4	0.1422	93.80	0.2040	82.67	0.3476	92.72	
		5	0.1309	93.97	0.2792	77.71	0.3423	92.78	
		6	0.1285	94.48	0.2421	80.95	0.3580	92.58	
	1766-1354 892-845	4	0.1542	92.91	0.2100	82.63	0.3366	92.83	
		5	0.1429	93.95	0.2050	82.66	0.3578	92.58	
		6	0.1151	95.99	0.2680	79.86	0.3570	92.59	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1392	93.96	0.2996	77.69	0.3387	92.81	
		5	0.1291	94.98	0.2835	77.78	0.3439	92.79	
		6	0.1252	94.98	0.2395	81.95	0.3595	92.55	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1419	93.80	0.2050	82.66	0.3576	92.58
			5	0.1238	94.98	0.2523	80.92	0.3411	92.79
			6	0.1217	94.99	0.2320	81.97	0.3343	92.85
1766-1354 892-845		4	0.1483	93.44	0.2070	82.65	0.3480	92.71	
		5	0.1309	93.97	0.2939	77.43	0.3322	92.87	
		6	0.1275	94.98	0.2436	81.85	0.3501	92.68	

	1766-1354	4	0.1360	93.76	0.2984	77.70	0.3431	92.77
		5	0.1221	94.99	0.2794	77.71	0.3320	92.87
	1175-1139	6	0.1216	94.99	0.2331	81.99	0.3367	92.83
Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.1328	93.97	0.2663	79.86	0.3942	90.88
	1175-1139	5	0.1232	94.98	0.2539	80.91	0.3796	91.20
	892-845	6	0.1181	95.99	0.2285	81.97	0.3365	92.83
	1766-1354 892-845	4	0.1459	93.74	0.2849	77.78	0.3260	92.99
		5	0.1316	93.97	0.2714	77.84	0.3340	92.94
		6	0.1247	94.98	0.2396	80.95	0.3396	92.80
	<b>1687-1605</b> <b>1473-1352</b>	5	0.1924	92.56	0.2615	80.70	0.3950	92.23
		6	0.1245	94.98	0.2550	80.91	0.3806	92.18
		7	<b>0.0620</b>	<b>98.56</b>	<b>0.1610</b>	<b>86.70</b>	<b>0.2950</b>	<b>95.23</b>

Dérivée première	1766-1354	4	0.1214	94.88	0.4319	89.97	0.4418	89.78	
	1175-1139	5	0.1112	95.34	0.4228	89.98	0.4439	89.76	
	892-845	6	0.1110	95.35	0.4253	89.98	0.4430	89.77	
	1766-1354 892-845	4	0.1369	93.96	0.4543	89.91	0.4511	89.67	
		5	0.1139	95.25	0.4356	89.96	0.4433	89.76	
		6	0.1130	95.28	0.4278	89.98	0.4397	89.80	
	<b>1687-1605</b> <b>1473-1352</b>	5	0.1236	94.79	0.4347	89.96	0.4427	89.77	
		6	0.1114	95.34	0.4220	89.99	0.4441	89.76	
		7	<b>0.0670</b>	<b>98.32</b>	<b>0.3910</b>	<b>91.30</b>	<b>0.3910</b>	<b>91.63</b>	
	Dérivée seconde	1766-1354	4	0.1141	95.22	0.4180	89.99	0.4535	89.64
		1175-1139	5	0.1120	95.30	0.4244	89.98	0.4491	89.70
		892-845	6	0.1112	95.32	0.4297	89.97	0.4470	89.72
1766-1354 892-845		4	0.1184	95.04	0.4227	89.98	0.4581	89.58	
		5	0.1131	95.28	0.4281	89.98	0.4495	89.69	
		6	0.1114	95.32	0.4316	89.97	0.4468	89.73	
1766-1354 1175-1139		4	0.1130	95.28	0.4172	89.99	0.4512	89.67	
		5	0.1118	95.31	0.4237	89.98	0.4485	89.70	
		6	0.1113	95.32	0.4298	89.97	0.4469	89.72	
Dérivée première + Soustraction d'une droite		1766-1354	4	0.1269	94.64	0.4396	89.95	0.4403	89.80
		1175-1139	5	0.1122	95.30	0.4259	89.98	0.4426	89.77
		892-845	6	0.1119	95.30	0.4283	89.98	0.4430	89.77
	1766-1354 892-845	4	0.1388	93.89	0.4572	89.90	0.4442	89.75	
		5	0.1138	95.25	0.4347	89.96	0.4411	89.79	
		6	0.1132	95.20	0.4287	89.97	0.4416	89.78	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1292	94.44	0.4427	89.94	0.4456	89.74	
		5	0.1131	95.20	0.4261	89.98	0.4444	89.75	
		6	0.1115	95.32	0.4285	89.97	0.4420	89.78	

*B) Acide salicylique*

Tableau 2.18 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide salicylique par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1978	98.51	0.3580	85.64	0.2380	93.16	
		5	0.1589	98.82	0.3460	85.83	0.2915	90.19	
		6	0.1541	98.85	0.3520	95.73	0.2641	92.68	
	1766-1354 892-845	4	0.2020	97.47	0.3590	85.61	0.2210	93.60	
		5	0.1812	98.67	0.3480	85.80	0.2260	93.48	
		6	0.1739	98.73	0.3030	89.73	0.2909	90.20	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1917	98.57	0.3500	85.77	0.2490	93.01	
		5	0.1579	98.83	0.3390	85.95	0.2912	90.20	
		6	0.1539	98.85	0.3560	85.67	0.2738	92.08	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1981	98.51	0.3490	85.78	0.2400	93.11
			5	0.1461	98.89	0.3270	86.12	0.2090	95.85
			6	0.1441	98.90	0.2962	90.09	0.2753	92.08
1766-1354 892-845		4	0.1981	98.51	0.3490	85.78	0.2370	93.19	
		5	0.1711	98.74	0.3260	86.12	0.2120	94.79	
		6	0.1662	98.78	0.3600	84.59	0.2070	95.89	
1766-1354 1175-1139		4	0.1912	98.57	0.3410	85.91	0.2460	93.05	
		5	0.1489	98.88	0.3190	86.22	0.2070	95.89	
		6	0.1468	98.89	0.3200	86.21	0.2784	92.41	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1701	98.75	0.2941	90.01	0.2350	93.23
			5	0.1600	98.82	0.2968	89.49	0.2910	90.20
			6	0.1518	98.87	0.3170	89.25	0.2280	93.42
	1766-1354 892-845	4	0.1855	98.62	0.3120	89.32	0.2730	92.12	
		5	0.1723	98.73	0.3160	89.26	0.2220	93.86	
		6	0.1628	98.80	0.3420	89.89	0.2340	93.27	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1749	98.71	0.3010	89.44	0.2460	93.05	
		5	0.1643	98.79	0.3030	89.41	0.2968	90.10	
		6	0.1558	98.84	0.3270	86.12	0.2330	93.29	

(Suite)

Dérivée première	<b>1687-1605</b>	4	0.1387	98.92	0.2478	97.87	0.0828	99.14
		<b>5</b>	<b>0.0490</b>	<b>99.70</b>	<b>0.2290</b>	<b>98.39</b>	<b>0.0340</b>	<b>99.89</b>
		6	0.1253	98.97	0.2648	94.77	0.1130	98.77
	1766-1354 892-845	4	0.1543	98.85	0.2669	94.75	0.2020	95.44
		5	0.1341	98.94	0.2757	94.69	0.1954	95.12
		6	0.1302	98.95	0.2754	94.69	0.2300	93.37
	1766-1354 1175-1139	4	0.1424	98.91	0.2539	94.84	0.2130	94.78
		5	0.1308	98.95	0.2598	94.80	0.2070	95.89
		6	0.1250	98.97	0.2696	94.73	0.2270	95.44
Dérivée seconde	<b>1687-1605</b> <b>1473-1352</b>	5	0.2150	97.32	0.2450	94.85	0.2600	92.52
		6	0.1277	98.96	0.2585	94.81	0.2980	90.08
		<b>7</b>	<b>0.0830</b>	<b>99.38</b>	<b>0.1970</b>	<b>95.20</b>	<b>0.1970</b>	<b>95.22</b>
	1766-1354 892-845	4	0.2210	97.25	0.2520	94.73	0.2690	92.25
		5	0.1299	98.95	0.2512	94.86	0.2050	95.84
		6	0.1262	98.97	0.2577	94.82	0.2220	94.98
	1766-1354 1175-1139	4	0.2310	97.12	0.2660	94.49	0.2710	92.80
		5	0.1307	98.95	0.2551	94.83	0.2090	95.85
		6	0.1248	98.97	0.2667	94.76	0.2100	94.86
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1433	98.90	0.2539	94.84	0.2975	90.08
		5	0.1303	98.95	0.2675	94.75	0.2949	90.13
		6	0.1261	98.97	0.2583	94.81	0.2240	94.52
	1766-1354 892-845	4	0.1546	98.85	0.2677	94.75	0.2110	94.89
		5	0.1342	98.94	0.2604	94.80	0.2030	95.97
		6	0.1294	98.96	0.2752	94.69	0.2360	93.21
	1766-1354 1175-1139	4	0.1499	98.87	0.2639	94.78	0.2330	93.29
		5	0.1344	98.94	0.2546	94.84	0.2200	94.62
		6	0.1238	98.97	0.2756	94.69	0.2200	94.61

## C) Eugénol

Tableau 2.19 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'eugénol par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4245	89.93	0.6474	77.72	0.3370	61.19	
		5	0.4141	89.98	0.6380	77.82	0.3297	61.08	
		6	0.4127	89.98	0.6284	77.90	0.3359	61.24	
	1766-1354 892-845	4	0.4249	89.93	0.6450	77.75	0.3471	61.70	
		5	0.4150	89.97	0.6400	77.80	0.3338	61.33	
		6	0.4146	89.98	0.6376	77.83	0.3337	61.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4228	89.94	0.6430	77.77	0.3418	61.98	
		5	0.4131	89.98	0.6361	77.84	0.3341	61.32	
		6	0.4128	89.98	0.6376	77.89	0.3357	61.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4257	89.92	0.6484	77.71	0.3327	61.37
			5	0.4152	89.97	0.6355	77.84	0.3290	61.51
			6	0.4123	89.98	0.6224	77.94	0.3386	61.13
1766-1354 892-845		4	0.4245	89.93	0.6435	77.77	0.3439	61.87	
		5	0.4145	89.98	0.6367	77.83	0.3364	61.22	
		6	0.4136	89.98	0.6286	77.90	0.3386	61.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.4230	89.94	0.6424	77.78	0.3369	61.20	
		5	0.4143	89.98	0.6342	77.86	0.3317	61.41	
		6	0.4125	89.98	0.6218	77.94	0.3376	61.17	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4349	87.86	0.6611	74.54	0.3220	61.21
			5	0.4148	89.98	0.6561	75.61	0.3374	61.18
			6	0.4144	89.98	0.6329	77.87	0.3380	61.15
	1766-1354 892-845	4	0.4371	87.84	0.6637	74.50	0.3330	61.69	
		5	0.4162	89.97	0.6601	74.55	0.3393	61.10	
		6	0.4157	89.97	0.6369	77.83	0.3409	61.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4344	87.86	0.6611	74.54	0.3200	61.54	
		5	0.4150	89.97	0.6563	75.61	0.3377	61.17	
		6	0.4146	89.98	0.6338	77.86	0.3386	61.18	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.4314	87.89	0.6433	77.77	0.3799	57.26	
	1175-1139	5	0.4164	89.97	0.6376	77.83	0.3519	61.24	
	892-845	6	0.4147	89.98	0.6406	77.80	0.3470	61.70	
	1766-1354 892-845	4	0.4349	87.86	0.6479	77.72	0.3896	57.09	
		5	0.4180	89.96	0.6434	77.77	0.3515	61.45	
		6	0.4168	89.97	0.6449	77.75	0.3566	61.12	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4296	89.90	0.6403	77.80	0.3684	59.26	
		5	0.4171	89.97	0.6380	77.82	0.3511	61.47	
		6	0.4160	89.97	0.6426	77.78	0.3558	61.17	
	Dérivée seconde	1766-1354	4	0.4405	88.81	0.6729	74.34	0.3116	62.07
		1175-1139	5	0.4351	87.86	0.6890	73.02	0.3908	55.17
		892-845	6	0.4132	89.98	0.6356	77.84	0.3381	61.15
1766-1354 892-845		4	0.4369	87.84	0.6756	74.29	0.3020	68.83	
		5	0.4338	87.87	0.6899	73.78	0.3737	58.81	
		6	0.4133	89.28	0.6357	77.84	0.3420	61.97	
		<b>3</b>	<b>0.3880</b>	<b>92.86</b>	<b>0.5840</b>	<b>81.30</b>	<b>0.2150</b>	<b>81.84</b>	
<b>1687-1605</b>		<b>4</b>	<b>0.3220</b>	<b>95.26</b>	<b>0.5080</b>	<b>85.80</b>	<b>0.2680</b>	<b>71.78</b>	
<b>1473-1352</b>		5	0.4129	89.98	0.6358	77.84	0.3377	61.17	
Dérivée première + Soustraction d'une droite		1766-1354	4	0.4321	87.88	0.6438	77.76	0.3793	57.31
	1175-1139	5	0.4174	89.97	0.6405	77.80	0.3499	61.54	
	892-845	6	0.4163	89.97	0.6430	77.77	0.3541	61.28	
	1766-1354 892-845	4	0.4333	87.87	0.6454	77.75	0.3807	56.88	
		5	0.4183	89.96	0.6429	77.77	0.3496	61.55	
		6	0.4169	89.97	0.6445	77.76	0.3578	61.04	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4313	87.89	0.6423	77.78	0.3718	58.98	
		5	0.4182	89.96	0.6409	77.79	0.3506	60.49	
		6	0.4169	89.97	0.6444	77.76	0.3582	60.01	

## D) Thymol

Tableau 2.20 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour le thymol par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.6432	45.13	1.8240	15.48	0.5210	49.28	
		5	1.6311	45.56	1.8845	13.38	0.5212	49.25	
		6	1.6163	44.88	1.8441	14.38	0.5249	49.20	
	1766-1354 892-845	4	1.6444	45.09	1.8490	14.02	0.5504	47.60	
		5	1.6398	45.28	1.8090	16.13	0.5542	47.46	
		6	1.6325	45.52	1.8629	13.05	0.5536	47.65	
	1766-1354 1175-1139	4	1.6361	45.40	1.8220	15.65	0.5788	47.93	
		5	1.6295	45.60	1.8850	13.43	0.5242	49.30	
		6	1.6127	44.93	1.8435	14.07	0.5285	49.64	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.6466	44.97	1.8240	15.38	0.5970	45.65
			5	1.6212	46.80	1.8789	13.93	0.5281	49.71
			6	1.6141	46.91	1.8319	14.50	0.5418	47.91
1766-1354 892-845		4	1.6452	44.06	1.8470	14.33	0.5440	47.03	
		5	1.6332	45.50	1.8140	15.53	0.5306	47.28	
		6	1.6307	45.58	1.8566	13.42	0.5382	47.76	
1766-1354 1175-1139		4	1.6387	45.31	1.8220	15.69	0.5560	46.34	
		5	1.6214	45.79	1.8840	13.51	0.5277	49.78	
		6	1.6166	45.88	1.8322	14.49	0.5323	49.97	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.5343	47.46	1.7806	17.80	0.4795	53.62	
		5	1.5304	47.58	1.7596	17.24	0.4579	53.24	
		6	1.5230	47.76	1.7514	17.70	0.4498	53.79	
	1765.5- 1354 864.1-815	4	1.5368	47.37	1.7807	17.78	0.4882	53.36	
		5	1.5333	47.49	1.7608	17.18	0.4613	54.07	
		6	1.5272	47.67	1.7615	17.13	0.4535	53.68	
	<b>1687-1605</b> <b>1473-1352</b> <b>908-856</b>	<b>2</b>	<b>1.3000</b>	<b>51.45</b>	<b>1.5600</b>	<b>21.70</b>	<b>0.4490</b>	<b>56.77</b>	
		3	1.6329	47.51	1.7621	17.09	0.4620	53.81	
		4	1.6261	47.69	1.7584	17.31	0.4525	53.97	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.6126	46.93	1.7363	18.35	0.5362	48.19
		5	1.6106	46.95	1.7277	18.62	0.5373	48.95
		6	1.6079	46.97	1.7193	18.82	0.5205	49.78
	1766-1354 892-845	4	1.6158	46.88	1.7385	18.27	0.5481	48.27
		5	1.6146	46.90	1.7291	18.58	0.5413	48.04
		6	1.6087	46.97	1.7234	18.73	0.5227	49.50
	1766-1354 1175-1139	4	1.6154	46.89	1.7405	16.19	0.5588	48.94
		5	1.6140	46.91	1.7260	18.67	0.5428	48.67
		6	1.6112	46.94	1.7234	18.73	0.5273	49.83
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.6788	40.13	1.7962	14.43	0.5662	44.25
		5	1.6133	46.92	1.7266	18.65	0.5405	48.23
		6	1.6109	46.95	1.7179	18.84	0.5215	49.66
	1766-1354 892-845	4	1.6837	38.76	1.7030	18.89	0.5737	43.22
		5	1.6130	46.92	1.7198	18.81	0.5454	48.71
		6	1.6113	46.94	1.7207	18.79	0.5259	49.05
	1766-1354 1175-1139	4	1.6893	38.31	1.7090	18.14	0.5736	43.25
		5	1.6151	46.90	1.7292	18.58	0.5496	48.84
		6	1.6120	46.94	1.7209	18.79	0.5246	49.24
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.6139	46.91	1.7372	18.32	0.5487	48.10
		5	1.6126	46.93	1.7261	18.66	0.5333	48.78
		6	1.6099	46.96	1.7212	18.78	0.5236	49.38
	1766-1354 892-845	4	1.6161	46.88	1.7381	18.28	0.5526	48.95
		5	1.6147	46.90	1.7269	18.64	0.5436	48.48
		6	1.6092	46.96	1.7244	18.71	0.5226	49.52
	1766-1354 1175-1139	4	1.6186	46.84	1.7432	18.08	0.5748	43.74
		5	1.6157	46.89	1.7258	18.67	0.5522	48.09
		6	1.6135	46.92	1.7280	18.61	0.5328	48.88

Tableau 2.21 : Modèles sélectionnés par PLS pour l'étalonnage et la prédiction des meilleurs modèles pour la série de cinq échantillons supplémentaires dilués dans un mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10).

Composés	Traitement spectrales	Model sélectionné	Région spectrale cm <sup>-1</sup>	LV	<i>RMSEE</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	<i>RMSECV</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>CV</sub>	<i>RMSEP</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>Pred</sub>
Acide salicylique	<b>Mod.1</b>	Dérivée première	1687-1605	5	0.034	99.89	0.049	99.7	0.229	98.39
	Mod.2	Dérivée seconde	1687-1605 1473-1352	7	0.083	99.38	0.197	95.2	0.197	95.22
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	<b>Mod.3</b>	Soustraction d'une ligne	1687-1605 1473-1352	7	0.062	98.56	0.161	86.7	0.295	95.23
	Mod.4	Dérivée première	1687-1605 1473-1352	7	0.067	98.32	0.391	91.3	0.391	91.63
Eugénol	<b>Mod.5</b>	Dérivée seconde	1687-1605 1473-1352	4	0.322	95.26	0.508	85.8	0.268	71.78
	Mod.6			3	0.388	92.86	0.584	81.3	0.215	81.84
Thymol	<b>Mod.7</b>	Soustraction d'une ligne	1687-1605 1473-1352 908-856	2	1.30	51.45	1.56	21.7	0.449	56.77

Les concentrations des échantillons synthétiques sont de 0,57 à 3,06 pour l'acide salicylique, de 0,7 à 2,26 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque, de 0,28 à 0,76 pour l'eugénol et de 0,38 à 1,38 pour le thymol par des mesures de transmission.

### 2.3.3.1.3 Calibration multivariée IRTF-Transmission-PLS des acides phénoliques de différentes classes (mélanges d'acides hydroxybenzoïques et d'acides hydroxycinnamiques)

Un ensemble réduit avec un design de  $2^4$ , correspondant aux quatre composés considérés (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque, acide *p*-coumarique et l'acide *trans*-cinnamique) à deux niveaux de concentration a été conçu comme indiqué dans la partie expérimentale, étant également évalué différents prétraitements de données comme correction de décalage, soustraction d'une ligne droite, première dérivée et seconde dérivée.

Dans cette étude nous avons optimisé tous ces paramètres et les résultats sont résumés dans les tableaux de 2.22 à 2.25 pour les quatre étalons. Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction *RMSEP*, de la calibration *RMSEE*, de la validation *RMSECV*, la variante latente (LV) ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (*RMSEP*), fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqués en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

Les régions spectrales (figure 2.12) à  $1759-1358\text{ cm}^{-1}$ ,  $1687-1605\text{ cm}^{-1}$ ,  $1473-1352\text{ cm}^{-1}$ ,  $1196-825\text{ cm}^{-1}$  et  $760-752\text{ cm}^{-1}$  ont été testées pour les mesures de transmission IRTF (tableau 2.26). Les meilleurs modèles ont été choisis en tenant compte de la capacité prédictive d'un ensemble de mélanges synthétiques des quatre composés considérés.

Les coefficients de régression linéaire élevés associés à un *RMSEP* faible et un *RMSECV* faible témoignent de la robustesse des modèles construits.

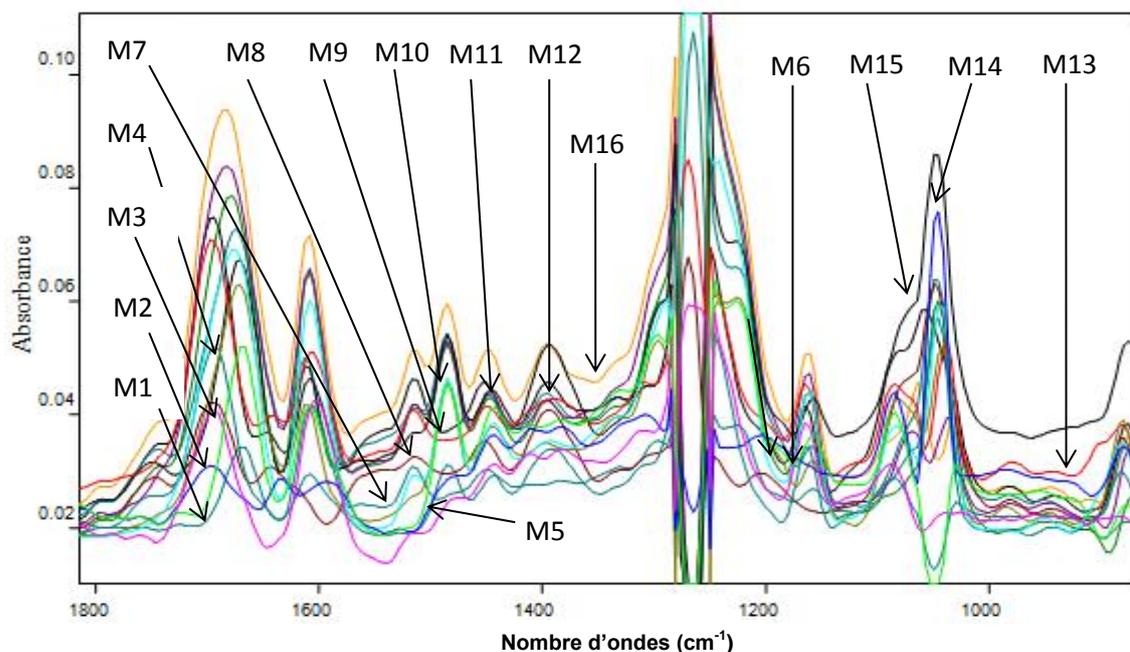


Figure 2.12 : Spectres PLS-IRTF-Transmission des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque, acide *trans*-cinnamique et acide *p*-coumarique) des seize mélanges de calibration préparés dans un mélange de solvants de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  ((90:10 v/v)). Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### A) Acide *para*-hydroxybenzoïque

Tableau 2.22 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2422	89.95	0.2040	93.67	0.4476	57.72	
		5	0.2309	89.97	0.2792	87.81	0.4423	57.78	
		6	0.2285	89.98	0.2421	89.95	0.4580	56.58	
	1766-1354 892-845	4	0.2542	89.91	0.2100	92.63	0.4366	57.83	
		5	0.2429	89.95	0.2050	93.66	0.4578	56.58	
		6	0.2151	89.99	0.2680	88.86	0.4570	56.59	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2392	89.96	0.2996	86.69	0.4387	57.81	
		5	0.2291	89.98	0.2835	86.78	0.4439	57.79	
		6	0.2252	89.98	0.2395	89.95	0.4595	56.55	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2419	89.97	0.2050	93.66	0.4576	56.58
			5	0.2238	89.98	0.2523	88.92	0.4411	57.79
			6	0.2217	89.99	0.2320	89.97	0.4343	57.85
		4	0.2483	89.93	0.2070	93.65	0.4480	57.71	

	1766-1354 892-845	5	0.2309	89.97	0.2939	86.73	0.4322	57.87
		6	0.2275	89.98	0.2436	89.94	0.4501	56.68
	1766-1354 1175-1139	4	0.2360	89.96	0.2984	86.70	0.4431	57.77
		5	0.2221	89.99	0.2794	87.81	0.4320	57.87
		6	0.2216	89.99	0.2331	89.97	0.4367	57.83
	Soustraction d'une droite	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b> <b>760-752</b>	5	0.1328	94.97	0.1663	94.86	0.1942
6			0.1232	94.98	0.1539	94.91	0.1796	89.88
7			<b>0.0440</b>	<b>99.92</b>	<b>0.0788</b>	<b>99.70</b>	<b>0.1050</b>	<b>96.59</b>
1766-1354 892-845		4	0.2459	89.94	0.2849	86.78	0.3260	64.99
		5	0.2316	89.97	0.2714	87.84	0.3040	67.64
		6	0.2247	89.98	0.2396	89.95	0.3396	64.80
1766-1354 1175-1139		4	0.2351	89.96	0.2668	88.86	0.3959	59.84
		5	0.2245	89.98	0.2550	88.91	0.3806	59.18
		6	0.2194	90.99	0.2306	89.97	0.3364	64.83

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2214	89.99	0.2319	89.97	0.3418	63.78
		5	0.2112	90.33	0.2228	89.98	0.3439	63.76
		6	0.2110	90.33	0.2253	89.98	0.3430	63.77
	1766-1354 892-845	4	0.2369	89.96	0.2543	88.91	0.3511	63.67
		5	0.2139	90.27	0.2356	89.96	0.3433	63.76
		6	0.2130	90.27	0.2278	89.98	0.3397	63.80
	<b>1196-825</b>	4	0.1236	92.98	0.2347	89.96	0.2427	90.77
		5	<b>0.0830</b>	<b>98.30</b>	<b>0.1610</b>	<b>97.60</b>	<b>0.1930</b>	<b>93.36</b>
		6	0.1108	94.44	0.2266	89.98	0.2435	90.76
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2141	89.99	0.2180	89.99	0.4535	56.64
		5	0.2120	90.33	0.2244	89.98	0.4491	56.70
		6	0.2112	90.42	0.2297	89.97	0.4470	56.72
	<b>1759-1358</b>	2	<b>0.1010</b>	<b>94.73</b>	<b>0.1240</b>	<b>92.20</b>	<b>0.3230</b>	<b>66.51</b>
		3	0.1131	94.66	0.1281	91.98	0.3495	63.69
		4	0.1114	94.66	0.1316	91.97	0.3468	63.73
	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b>	5	0.1130	94.66	0.1172	94.99	0.2512	85.67
		6	0.1118	94.66	0.1237	94.98	0.2485	85.70
		7	<b>0.0300</b>	<b>99.96</b>	<b>0.0570</b>	<b>99.80</b>	<b>0.2080</b>	<b>89.71</b>
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2269	89.98	0.2396	89.95	0.4403	56.80
		5	0.2122	90.33	0.2259	89.98	0.4426	56.77
		6	0.2119	90.33	0.2283	89.98	0.4430	56.77
	1766-1354 892-845	4	0.2388	89.96	0.2572	88.90	0.4442	56.75
		5	0.2138	90.30	0.2347	89.96	0.4411	56.79
		6	0.2132	90.30	0.2287	89.97	0.4416	56.78
	1766-1354 1175-1139	4	0.2292	89.98	0.2427	89.94	0.4456	56.74
		5	0.2131	90.30	0.2261	89.98	0.4444	56.75
		6	0.2115	90.30	0.2285	89.97	0.4420	56.78

### B) Acid salicylique

Tableau 2.23 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide salicylique par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1978	81.51	0.1580	85.64	0.4380	74.16	
		5	0.1589	85.82	0.1460	85.83	0.4915	68.19	
		6	0.1541	85.85	0.1520	85.73	0.4641	71.60	
	1766-1354 892-845	4	0.2020	79.47	0.1590	85.61	0.4210	74.60	
		5	0.1812	84.67	0.1480	85.80	0.4260	74.46	
		6	0.1739	85.73	0.2030	79.73	0.4909	68.20	
	<b>1759-1358</b>	4	0.1917	81.57	0.1500	85.77	0.4490	74.86	
		5	<b>0.0340</b>	<b>99.79</b>	<b>0.0480</b>	<b>99.60</b>	<b>0.2980</b>	<b>90.61</b>	
		6	0.1539	85.85	0.1560	85.67	0.4738	70.48	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.1981	81.51	0.1490	85.78	0.4400	74.11
			5	0.1461	85.89	0.1270	89.12	0.4090	76.85
			6	0.1441	85.90	0.1962	81.49	0.4753	70.45
1766-1354 892-845		4	0.1981	81.51	0.1490	85.78	0.4370	74.19	
		5	0.1711	85.74	0.1260	90.12	0.4120	76.79	
		6	0.1662	85.78	0.1600	85.59	0.4070	76.90	
1766-1354 1175-1139		4	0.1912	81.57	0.1410	90.91	0.4460	74.95	
		5	0.1489	85.88	0.1190	90.22	0.4070	76.90	
		6	0.1468	85.89	0.1200	89.21	0.4784	70.41	
Soustraction d'une droite	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b> <b>760-752</b>	4	<b>0.0520</b>	<b>99.92</b>	<b>0.0860</b>	<b>99.50</b>	<b>0.3340</b>	<b>86.43</b>	
		5	0.1600	85.82	0.1968	81.49	0.4910	68.20	
		6	0.1518	85.87	0.2170	79.25	0.4280	74.42	
	1766-1354 892-845	4	0.1855	84.62	0.1120	90.32	0.4730	70.12	
		5	0.1723	85.73	0.1160	90.26	0.4220	74.56	
		6	0.1628	85.80	0.1420	85.89	0.4340	74.27	
	1766-1354 1175-1139	4	0.1749	85.71	0.1010	90.44	0.4460	74.95	
		5	0.1643	85.79	0.1030	90.41	0.4968	68.10	
		6	0.1558	85.84	0.1270	89.12	0.4330	74.29	

(Suite)

Dérivée première	<b>1687-1605</b>	4	0.1387	89.92	0.1478	85.87	0.3828	86.34
		<b>5</b>	<b>0.0340</b>	<b>99.89</b>	<b>0.0490</b>	<b>99.70</b>	<b>0.2290</b>	<b>98.39</b>
		6	0.1253	89.97	0.1648	85.77	0.3130	90.77
	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b>	4	0.1543	85.85	0.1669	85.75	0.4020	79.00
		<b>5</b>	<b>0.0380</b>	<b>99.96</b>	<b>0.0520</b>	<b>99.90</b>	<b>0.3990</b>	<b>80.12</b>
		6	0.1302	86.95	0.1754	85.69	0.4300	67.37
	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b> <b>760-752</b>	4	0.1424	87.91	0.1539	85.84	0.5130	66.78
		<b>5</b>	<b>0.0440</b>	<b>99.95</b>	<b>0.0720</b>	<b>99.80</b>	<b>0.4440</b>	<b>74.55</b>
		6	0.1250	89.97	0.1696	85.73	0.5270	66.44
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2150	79.32	0.2450	72.85	0.5600	63.52
		<b>5</b>	<b>0.1277</b>	<b>89.96</b>	<b>0.1585</b>	<b>85.81</b>	<b>0.5980</b>	<b>60.08</b>
		6	0.1233	89.97	0.1552	85.83	0.5050	66.94
	<b>1687-1605</b> <b>1473-1352</b>	5	0.1210	89.25	0.2520	72.73	0.3690	86.25
		<b>6</b>	<b>0.1299</b>	<b>89.95</b>	<b>0.2512</b>	<b>72.86</b>	<b>0.3050</b>	<b>88.94</b>
		<b>7</b>	<b>0.0830</b>	<b>99.38</b>	<b>0.1970</b>	<b>95.20</b>	<b>0.1970</b>	<b>95.22</b>
	1766-1354 1175-1139	4	0.1310	89.12	0.2660	73.49	0.4710	70.18
		<b>5</b>	<b>0.1307</b>	<b>89.95</b>	<b>0.1551</b>	<b>85.83</b>	<b>0.5090</b>	<b>66.85</b>
		6	0.1248	89.97	0.1667	85.76	0.5100	66.83
Dérivée première + Soustraction d'une droite	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b> <b>760-752</b>	<b>4</b>	<b>0.0500</b>	<b>99.93</b>	<b>0.0660</b>	<b>99.80</b>	<b>0.4640</b>	<b>64.91</b>
		<b>5</b>	<b>0.1303</b>	<b>89.95</b>	<b>0.1675</b>	<b>85.75</b>	<b>0.4949</b>	<b>60.13</b>
		6	0.1261	89.97	0.1583	85.81	0.5240	56.52
	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b>	<b>4</b>	<b>0.0500</b>	<b>99.93</b>	<b>0.0650</b>	<b>99.80</b>	<b>0.4630</b>	<b>64.83</b>
		<b>5</b>	<b>0.1342</b>	<b>89.94</b>	<b>0.1604</b>	<b>85.80</b>	<b>0.5030</b>	<b>60.97</b>
		6	0.1294	89.96	0.1752	85.69	0.5360	60.21
	1766-1354 1175-1139	4	0.1499	89.87	0.1639	85.78	0.5330	60.29
		<b>5</b>	<b>0.1344</b>	<b>89.94</b>	<b>0.1546</b>	<b>85.84</b>	<b>0.5200</b>	<b>63.62</b>
		6	0.1238	89.97	0.1756	85.69	0.5200	63.61

### C) Acide trans-cinnamique

Tableau 2.24 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide trans-cinnamique par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3245	89.93	0.5474	66.72	0.2370	60.19	
		5	0.3141	89.98	0.5380	66.82	0.2297	61.48	
		6	0.3127	89.98	0.5284	67.90	0.2359	60.24	
	1766-1354 892-845	4	0.3249	89.93	0.5450	66.75	0.2471	59.70	
		5	0.3150	89.97	0.5400	66.80	0.2338	60.33	
		6	0.3146	89.98	0.5376	66.83	0.2337	60.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3228	89.94	0.5430	66.77	0.2418	59.98	
		5	0.3131	89.98	0.5361	66.84	0.2341	60.32	
		6	0.3128	89.98	0.5376	66.89	0.2357	60.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3257	89.92	0.5484	66.71	0.2327	60.37
			5	0.3152	89.97	0.5355	66.84	0.2290	60.51
			6	0.3123	89.98	0.5224	67.94	0.2386	60.13
1766-1354 892-845		4	0.3245	89.93	0.5435	66.77	0.2439	59.87	
		5	0.3145	89.98	0.5367	66.83	0.2364	60.22	
		6	0.3136	89.98	0.5286	67.90	0.2386	60.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.3230	89.94	0.5424	66.78	0.2369	60.20	
		5	0.3143	89.98	0.5342	66.86	0.2317	60.41	
		6	0.3125	89.98	0.5218	67.94	0.2376	60.17	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3349	89.86	0.5611	65.54	0.2220	61.41
			5	0.3148	89.98	0.5561	66.61	0.2374	60.18
			6	0.3144	89.98	0.5329	66.87	0.2380	60.15
	1766-1354 892-845	4	0.3371	89.84	0.5637	65.50	0.2330	60.69	
		5	0.3162	89.97	0.5601	65.55	0.2393	60.10	
		6	0.3157	89.97	0.5369	66.83	0.2409	60.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3344	89.86	0.5611	65.54	0.2200	61.54	
		5	0.3150	89.97	0.5563	66.61	0.2377	60.17	
		6	0.3146	89.98	0.5338	66.86	0.2386	60.18	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3314	89.89	0.5433	66.77	0.2799	56.26
		5	0.3164	89.97	0.5376	66.83	0.2519	58.42
		6	0.3147	89.98	0.5406	66.80	0.2470	58.70
	1766-1354 892-845	4	0.3349	89.86	0.5479	66.72	0.2896	56.29
		5	0.3180	89.96	0.5434	66.77	0.2515	58.45
		6	0.3168	89.97	0.5449	66.75	0.2566	58.12
	1766-1354 1175-1139	4	0.3296	89.90	0.5403	66.80	0.2684	56.26
		5	0.3171	89.97	0.5380	66.82	0.2511	58.47
		6	0.3160	89.97	0.5426	66.78	0.2558	58.17
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3405	88.81	0.5729	63.34	0.2116	65.07
		5	0.3351	89.86	0.5890	63.02	0.2908	55.17
		6	0.3132	89.98	0.5356	66.84	0.2381	60.15
	1766-1354 892-845	4	0.3369	89.84	0.5756	63.29	0.2020	66.83
		5	0.3338	89.87	0.5899	63.00	0.2737	56.81
		6	0.3133	89.98	0.5357	66.84	0.2420	58.97
	1766-1354 1175-1139	4	0.3362	89.85	0.5726	63.35	0.2995	55.19
		5	0.3335	89.87	0.5868	63.07	0.2808	56.17
		6	0.3129	89.98	0.5358	66.84	0.2377	59.17
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3321	89.88	0.5438	66.76	0.2793	56.31
		5	0.3174	89.97	0.5405	66.80	0.2499	58.54
		6	0.3163	89.97	0.5430	66.77	0.2541	58.28
	1766-1354 892-845	4	0.3333	89.87	0.5454	66.75	0.2807	56.18
		5	0.3183	89.96	0.5429	66.77	0.2496	58.55
		6	0.3169	89.97	0.5445	66.76	0.2578	58.04
	1766-1354 1175-1139	4	0.3313	89.89	0.5423	66.78	0.2718	56.98
		5	0.3182	89.96	0.5409	66.79	0.2506	58.49
		6	0.3169	89.97	0.5444	66.76	0.2582	58.01
Normalisation vectorielle (SNV)	<b>1759-1358 1196-825</b>	<b>6</b>	<b>0.2500</b>	<b>93.14</b>	<b>0.4800</b>	<b>71.60</b>	<b>0.1400</b>	<b>70.51</b>

*D) Acide p-coumarique*

Tableau 2.25 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide p-coumarique par PLS-transmission-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2432	77.13	0.4240	68.38	0.2210	77.28	
		5	0.2311	77.56	0.4845	64.48	0.2212	77.69	
		6	0.2163	77.88	0.4441	67.04	0.2249	77.20	
	1766-1354 892-845	4	0.2444	77.09	0.4490	67.02	0.2504	76.60	
		5	0.2398	77.28	0.4090	69.13	0.2542	76.46	
		6	0.2325	77.52	0.4629	65.05	0.2536	76.65	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2361	77.40	0.4220	68.65	0.2788	74.93	
		5	0.2295	77.60	0.4850	64.43	0.2242	77.30	
		6	0.2127	77.93	0.4435	67.07	0.2285	77.64	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2466	77.13	0.4240	68.38	0.2970	72.65
			5	0.2212	77.80	0.4789	64.93	0.2281	77.91
			6	0.2141	77.91	0.4319	68.50	0.2418	77.61
1766-1354 892-845		4	0.2452	77.06	0.4470	68.33	0.2440	77.03	
		5	0.2332	77.50	0.4140	68.53	0.2306	77.28	
		6	0.2307	77.58	0.4566	67.42	0.2382	77.76	
1766-1354 1175-1139		4	0.2387	77.31	0.4220	68.69	0.2560	76.34	
		5	0.2214	77.79	0.4840	64.51	0.2277	77.78	
		6	0.2166	77.88	0.4322	68.49	0.2323	77.97	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2343	77.46	0.4806	64.80	0.2795	74.62
			5	0.2304	77.58	0.4596	67.24	0.2579	76.24
			6	0.2230	77.76	0.4514	67.70	0.2498	76.79
	1766-1354 892-845	4	0.2368	77.37	0.4807	64.78	0.2882	74.36	
		5	0.2333	77.49	0.4608	65.18	0.2613	76.07	
		6	0.2272	77.67	0.4615	65.13	0.2535	76.68	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2366	77.38	0.4835	64.56	0.2875	73.73	
		5	0.2329	77.51	0.4621	65.09	0.2620	76.81	
		6	0.2261	77.69	0.4584	67.31	0.2525	76.97	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2126	78.93	0.4363	68.35	0.2362	77.68
		5	0.2106	78.95	0.4277	68.62	0.2373	77.78
		6	0.2079	78.97	0.4193	68.82	0.2205	77.95
	1766-1354 892-845	4	0.2158	78.88	0.4385	68.27	0.2481	77.27
		5	0.2146	78.90	0.4291	68.58	0.2413	77.04
		6	0.2087	78.97	0.4234	68.73	0.2227	77.50
	1766-1354 1175-1139	4	0.2154	78.89	0.4405	67.19	0.2588	76.94
		5	0.2140	78.91	0.4260	68.67	0.2428	77.67
		6	0.2112	78.94	0.4234	68.73	0.2273	77.83
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2788	74.13	0.4962	64.43	0.2662	76.25
		5	0.2133	78.92	0.4266	68.65	0.2405	77.23
		6	0.2109	78.95	0.4179	68.84	0.2215	77.66
	1766-1354 892-845	4	0.2837	74.64	0.4030	69.80	0.2737	74.22
		5	0.2130	78.92	0.4198	68.81	0.2454	77.46
		6	0.2113	78.94	0.4207	68.79	0.2259	77.05
	1766-1354 1175-1139	4	0.2893	74.31	0.4090	69.14	0.2736	74.25
		5	0.2151	78.90	0.4292	68.58	0.2496	77.24
		6	0.2120	78.94	0.4209	68.79	0.2246	77.84
Dérivée première + Soustraction d'une droite	<b>1759-1358</b> <b>1196-825</b> <b>760-752</b>	4	0.2139	78.91	0.4372	68.32	0.2487	77.10
		5	<b>0.1920</b>	<b>83.15</b>	<b>0.3540</b>	<b>77.80</b>	<b>0.1380</b>	<b>84.98</b>
		6	0.2099	78.96	0.4212	68.78	0.2236	77.38
	1766-1354 892-845	4	0.2161	78.88	0.4381	68.28	0.2526	76.95
		5	0.2147	78.90	0.4269	68.64	0.2436	77.48
		6	0.2092	78.96	0.4244	68.71	0.2226	77.52
	1766-1354 1175-1139	4	0.2186	78.84	0.4432	67.08	0.2748	74.74
		5	0.2157	78.89	0.4258	68.67	0.2522	76.09
		6	0.2135	78.92	0.4280	68.61	0.2328	77.88

Tableau 2.26 : Modèles sélectionnés par PLS pour l'étalonnage et la prédiction des meilleurs modèles pour la série de cinq échantillons supplémentaires par des mesures de transmission dans un mélange de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10).

Composés	Traitements spectrales	Model sélectionné	Région spectrale cm <sup>-1</sup>	LV	<i>RMSEE</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	<i>RMSECV</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>CV</sub>	<i>RMSEP</i> mg mL <sup>-1</sup>	<i>R</i> <sup>2</sup> <sub>Pred</sub>
Acide salicylique	Mod.1	Dérivée première	1687-1605	5	0.034	99.89	0.049	99.7	0.229	98.39
	Mod.2	Dérivée seconde	1687-1605 1473-1352	7	0.083	99.38	0.197	95.2	0.197	95.22
	Mod.3	Pas de traitements	1759-1358	5	0.034	99.79	0.048	99.6	0.298	90.61
	Mod.4	Soustraction d'une droite	1759-1358 1196-825 760-752	4	0.052	99.92	0.086	99.5	0.334	86.43
	Mod.5	Dérivée première	1759-1358 1196-825	5	0.038	99.96	0.052	99.9	0.399	80.12
	Mod.6		1759-1358 1196-825 760-752	5	0.044	99.95	0.072	99.8	0.444	74.55
	Mod.7	Dérivée première+ soustraction d'une droite	1759-1358 1196-825 760-752	4	0.050	99.93	0.066	99.8	0.464	64.91
	Mod.8		1759-1358 1196-825	4	0.050	99.93	0.065	99.8	0.463	64.83

Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Mod.3	Soustraction d'une droite	1759-1358 1196-825 760-752	7	0.044	99.92	0.0788	99.7	0.105	96.59
	Mod.4	Dérivée première	1196-825	5	0.083	98.30	0.161	97.6	0.193	93.36
	Mod.5	Dérivée seconde	1759-1358 1196-825	7	0.030	99.96	0.057	99.8	0.208	89.71
	Mod.6		1759-1358	2	0.101	94.73	0.124	92.2	0.323	66.51
Acide <i>p</i> -coumarique	Mod.2	Dérivée première+ soustraction d'une droite	1759-1358 1196-825 760-752	5	0.192	83.15	0.354	77.8	0.138	84.98
Acide <i>trans</i> -cinnamique	Mod.1	Normalisation vectorielle (SNV)	1759-1358 1196-825	6	0.25	93.14	0.48	71.6	0.14	70.51

Les concentrations des mélanges synthétiques sont de 0,60 à 3,00 pour l'acide salicylique, de 0,7 à 2,34 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque, de 0,30 à 0,78 pour l'acide *p*-coumarique et de 0,38 à 1,36 pour l'acide *trans*-cinnamique.

### 2.3.3.2. Calibration multivariée PLS-ATR-IRTF

#### 2.3.3.2.1. Calibration multivariée PLS-ATR-IRTF des acides phénoliques de la même classe

La même étude a été faite pour les mesures ATR et les meilleurs modèles ont été établis pour chaque composé en tenant compte de la capacité prédictive du modèle pour un ensemble de mélanges des trois composés (tableaux 2.27-2.32).

Dans cette étude nous avons optimisé tous ces paramètres et les résultats sont résumés dans les tableaux de 2.27 à 2.29 pour les trois étalons. Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction *RMSEP*, de la calibration *RMSEE*, de la validation *RMSECV*, la variante latente (LV) ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (*RMSEP*), fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqués en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

Les régions spectrales entre 1852-1586  $\text{cm}^{-1}$ , 1584-1239  $\text{cm}^{-1}$ , 1240-893  $\text{cm}^{-1}$  et 895-550  $\text{cm}^{-1}$  pour ATR-IRTF ont été utilisées en employant la correction d'Offset, la soustraction d'une droite, la dérivée première et dérivée seconde comme prétraitement spectraux (tableau 2.30 et figure 2.13). À partir des données rapportées dans les tableaux mentionnés, on peut conclure que les données de transmission ont fourni la meilleure capacité de prédiction. Cependant, il faut remarquer que sur l'ensemble des cinq échantillons prédits, les concentrations des trois composés considérés augmentent simultanément et cela pourrait être exceptionnel dans le cas d'échantillons inconnus. Ainsi, une nouvelle série de cinq échantillons synthétiques avec des concentrations d'acide salicylique de 0,61 à 3,02, de 1,11 à 2,21 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de 0,4 à 1,43 pour l'acide vanillique étant variable la relation entre tous les composés considérés. Pour cette série d'échantillons représentés par Mod.4, Mod.5 et Mod.6, l'erreur quadratique moyenne de prédiction des modèles sélectionnés était inférieure à celles obtenues par les mesures de transmission, indiquant ainsi à nouveau l'intérêt d'utiliser le mode ATR/IRTF.

Dans le cas des données ATR-IRTF, cinq échantillons supplémentaires ont été utilisés pour évaluer l'exactitude des modèles de prédiction et, comme on peut le voir dans

le tableau 2.31 et à partir de l'équation  $y = 0,8163C_{\text{theor}} + 1,5$  avec  $R^2 = 0,9998$  obtenu pour le nombre total d'échantillons d'analyses, la méthode a fourni des résultats précis.

Le tableau 2.32 résume les données trouvées pour cinq échantillons en utilisant les approches PLS-IRTF et il a été obtenu la ligne de régression  $A = f(C)$  entre les données PLS prédites et les valeurs réelles de l'acide salicylique, de l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de l'acide vanillique pour la transmission et l'ATR de la tache sèche données confirmées que la mesure ATR a fourni les résultats les plus précis.

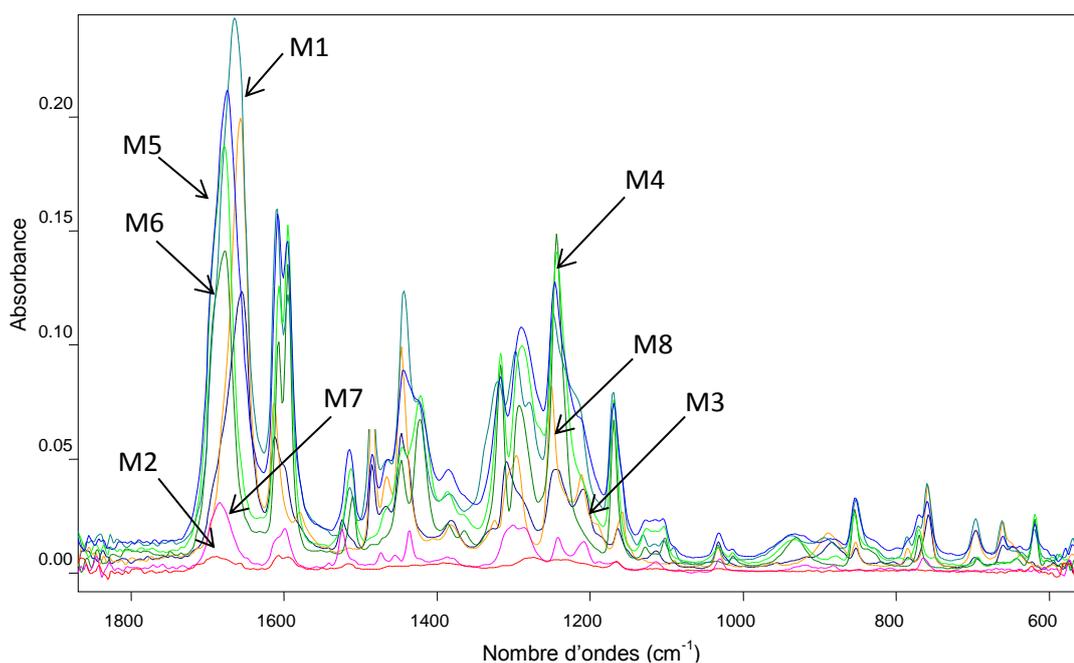


Figure 2.13 : Spectres PLS-ATR-IRTF des acides phénoliques de même classe (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique) de huit mélanges de calibration préparés dans de l'éthanol. Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

A) Acide *para*-hydroxybenzoïque

Tableau 2.27 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4422	89.95	0.7040	71.67	0.4476	55.72	
		5	0.4309	89.97	0.7792	66.81	0.4423	55.78	
		6	0.4285	90.48	0.7421	69.95	0.4580	55.58	
	<b>1240-550</b>	<b>3</b>	<b>0.3410</b>	<b>94.15</b>	<b>0.6240</b>	<b>78.48</b>	<b>0.3460</b>	<b>63.22</b>	
		4	0.4429	89.95	0.7050	71.66	0.4578	55.58	
		5	0.4151	90.99	0.7680	68.86	0.4570	55.59	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4392	89.96	0.7996	66.69	0.4387	55.81	
		5	0.4291	90.98	0.7835	66.78	0.4439	55.79	
		6	0.4252	90.98	0.7395	69.95	0.4595	55.55	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4419	89.97	0.7050	71.66	0.4576	55.58
			5	0.4238	90.98	0.7523	69.92	0.4411	55.79
			6	0.4217	90.99	0.7320	69.97	0.4343	55.85
1766-1354 892-845		4	0.4483	89.93	0.7070	71.65	0.4480	55.71	
		5	0.4309	89.97	0.7939	66.73	0.4322	55.87	
		6	0.4275	90.98	0.7436	69.94	0.4501	55.68	
1766-1354 1175-1139		4	0.4360	89.96	0.7984	66.70	0.4431	55.77	
		5	0.4221	90.99	0.7794	66.81	0.4320	55.87	
		6	0.4216	90.99	0.7331	69.97	0.4367	55.83	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4328	89.97	0.7663	68.86	0.4942	53.88	
		5	0.4232	90.98	0.7539	69.91	0.4796	53.20	
		6	0.4181	90.99	0.7285	70.97	0.4365	55.83	
	1766-1354 892-855	4	0.4459	89.94	0.7849	66.78	0.4260	55.99	
		5	0.4316	89.97	0.7714	66.84	0.4040	56.64	
		6	0.4247	90.98	0.7396	69.95	0.4396	55.80	
	1766-1354 1175-1139	4	0.4351	89.96	0.7668	66.86	0.4959	53.84	
		5	0.4245	90.98	0.7550	69.91	0.4806	53.18	
		6	0.4194	90.99	0.7306	69.97	0.4364	55.83	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2214	95.87	0.2319	94.97	0.2418	64.78
	1175-1139	5	0.2112	95.89	0.2228	94.98	0.2439	64.76
	892-845	6	0.2110	95.90	0.2253	94.98	0.2430	64.77
	1766-1354	4	0.2369	94.96	0.2543	94.91	0.2511	64.67
	892-845	5	0.2139	95.85	0.2356	94.96	0.2433	64.76
		6	0.2130	95.86	0.2278	94.98	0.2397	64.80
	1766-1354	4	0.2236	95.86	0.2347	94.96	0.2427	64.77
	1175-1139	5	0.2114	95.88	0.2220	94.99	0.2441	64.76
		6	0.2108	95.92	0.2266	94.98	0.2435	64.76
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.2141	95.87	0.2180	94.99	0.2535	64.64
	1175-1139	5	0.2120	95.88	0.2244	94.98	0.2491	64.70
	892-845	6	0.2112	95.89	0.2297	94.97	0.2470	64.72
	1766-1354	4	0.2184	95.85	0.2227	94.98	0.2581	64.58
	892-845	5	0.2131	95.86	0.2281	94.98	0.2495	64.69
		6	0.2114	95.88	0.2316	94.97	0.2468	64.73
	1766-1354	4	0.2130	95.86	0.2172	94.99	0.2512	64.67
	1175-1139	5	0.2118	95.88	0.2237	94.98	0.2485	64.70
		6	0.2113	95.88	0.2298	94.97	0.2469	64.72
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.2269	95.85	0.2396	94.95	0.2403	64.80
	1175-1139	5	0.2122	95.87	0.2259	94.98	0.2426	64.77
	892-845	6	0.2119	95.87	0.2283	94.98	0.2430	64.77
	1766-1354	4	0.2388	94.96	0.2572	94.90	0.2442	64.75
	892-845	5	0.2138	95.84	0.2347	94.96	0.2411	64.79
		6	0.2132	95.86	0.2287	94.97	0.2416	64.78
	1766-1354	4	0.2292	95.84	0.2427	94.94	0.2456	64.74
	1175-1139	5	0.2131	95.86	0.2261	94.98	0.2444	64.75
		6	0.2115	95.88	0.2285	94.97	0.2420	64.78
Normalisation vectorielle (SNV)	<b>1852-1238 895-550</b>	<b>6</b>	<b>0.1730</b>	<b>98.61</b>	<b>0.1930</b>	<b>97.94</b>	<b>0.1600</b>	<b>71.21</b>

*B) Acide salicylique*

Tableau 2.28 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour l'acide salicylique par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3978	86.51	0.4580	86.64	0.6380	50.16	
		5	0.3589	90.82	0.4460	86.83	0.6915	46.19	
		6	0.3541	90.85	0.4520	86.73	0.6641	47.60	
	1766-1354 892-845	4	0.3020	94.47	0.4590	86.61	0.6210	50.60	
		5	0.3812	87.67	0.4480	86.80	0.6260	50.46	
		6	0.3739	88.73	0.4030	89.73	0.6909	46.20	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3917	86.57	0.4500	86.77	0.6490	49.86	
		5	0.3579	90.83	0.4390	86.95	0.6912	46.20	
		6	0.3539	90.85	0.4560	86.67	0.6738	47.48	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3981	86.51	0.4490	86.78	0.6400	49.11
			5	0.3461	90.89	0.4270	88.12	0.6090	52.85
			6	0.3441	90.90	0.4962	84.49	0.6753	47.45
<b>895-550</b>		4	0.2981	94.51	0.4490	86.78	0.6370	50.19	
		<b>5</b>	<b>0.2310</b>	<b>98.47</b>	<b>0.3360</b>	<b>96.23</b>	<b>0.5450</b>	<b>57.82</b>	
		6	0.2662	96.78	0.4600	87.59	0.6070	52.90	
1766-1354 1175-1139		4	0.2912	94.57	0.4410	86.91	0.6460	49.95	
		5	0.2489	97.88	0.4190	88.22	0.6070	52.90	
		6	0.2468	97.89	0.4200	88.21	0.6784	47.41	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3701	88.75	0.4941	84.51	0.6350	50.23	
		5	0.3600	89.82	0.4968	84.49	0.6910	46.20	
		6	0.3518	90.87	0.4170	88.25	0.6280	50.42	
	1766-1354 892-845	4	0.3855	87.62	0.4120	88.32	0.6730	47.12	
		5	0.3723	88.73	0.4160	88.26	0.6220	50.56	
		6	0.3628	89.80	0.4420	86.89	0.6340	50.27	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3749	88.71	0.4010	89.44	0.6460	49.95	
		5	0.3643	89.79	0.4030	89.41	0.6968	46.10	
		6	0.3558	90.84	0.4270	88.12	0.6330	50.29	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.3387	90.92	0.4478	86.87	0.4828	61.34
	1175-1139	5	0.3279	91.96	0.4481	86.87	0.4866	61.28
	892-845	6	0.3253	91.97	0.4648	85.77	0.4130	64.77
	1766-1354	4	0.3543	90.85	0.4669	85.75	0.4020	64.00
	892-845	5	0.3341	90.94	0.4757	85.69	0.4954	61.12
		6	0.3302	90.95	0.4754	85.69	0.4300	62.37
	<b>1852-1586</b>	<b>4</b>	<b>0.2680</b>	<b>97.88</b>	<b>0.2970</b>	<b>97.06</b>	<b>0.1310</b>	<b>95.81</b>
	<b>1240-550</b>	5	0.3308	91.95	0.3598	90.80	0.2070	92.89
		6	0.3250	91.97	0.3696	91.73	0.2270	92.44
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.3150	92.32	0.4450	86.85	0.3600	68.52
	1175-1139	5	0.3277	91.96	0.4585	86.81	0.3980	64.08
	892-845	6	0.3233	91.97	0.4552	86.83	0.3050	67.94
	1766-1354	4	0.3210	91.25	0.4520	86.73	0.3690	68.25
	892-845	5	0.3299	91.95	0.4512	86.86	0.3050	72.94
		6	0.3262	91.97	0.4577	86.82	0.3220	71.57
	1766-1354	4	0.3310	90.12	0.4660	85.49	0.3710	68.18
	1175-1139	5	0.3307	90.95	0.4551	86.83	0.3090	72.85
		6	0.3248	91.97	0.4667	86.76	0.3100	67.83
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.3433	90.90	0.4539	86.84	0.3975	64.08
	1175-1139	5	0.3303	90.95	0.4675	85.75	0.3949	64.13
	892-845	6	0.3261	91.97	0.4583	85.81	0.3240	71.52
	1766-1354	4	0.3546	90.85	0.4677	85.75	0.3110	71.81
	892-845	5	0.3342	90.94	0.4604	85.80	0.3030	72.97
		6	0.3294	91.96	0.4752	84.69	0.3360	70.21
	1766-1354	4	0.3499	90.87	0.4639	85.78	0.3330	70.29
	1175-1139	5	0.3344	90.94	0.4546	86.84	0.3200	71.62
		6	0.3238	91.97	0.4756	84.69	0.3200	71.61

### C) Acide vanillique

Tableau 2.29 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide vanillique par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>RMSECV</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>RMSEP</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2245	92.93	0.2474	89.72	0.2370	80.19	
		5	0.2141	92.98	0.2380	90.82	0.2297	80.48	
		6	0.2127	92.98	0.2284	90.90	0.2359	80.24	
	<b>1240-550</b>	4	<b>0.0830</b>	<b>99.09</b>	<b>0.1450</b>	<b>96.90</b>	<b>0.0830</b>	<b>99.09</b>	
		5	0.1150	89.97	0.2400	89.80	0.1338	89.33	
		6	0.1146	89.98	0.2376	90.83	0.1337	89.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2228	92.94	0.2430	89.77	0.2418	80.98	
		5	0.2131	92.98	0.2361	90.84	0.2341	80.32	
		6	0.2128	92.98	0.2376	90.89	0.2357	80.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2257	92.92	0.2484	89.71	0.2327	80.37
			5	0.2152	92.97	0.2355	90.84	0.2290	80.51
			6	0.2123	92.98	0.2224	90.94	0.2386	80.13
<b>1240-893</b>		4	<b>0.1540</b>	<b>96.88</b>	<b>0.1710</b>	<b>95.69</b>	<b>0.1110</b>	<b>91.05</b>	
		5	0.2145	92.98	0.2367	90.83	0.1364	89.22	
		6	0.2136	92.98	0.2286	90.90	0.1386	89.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.2230	92.94	0.2424	89.78	0.2369	80.20	
		5	0.2143	92.98	0.2342	90.86	0.2317	80.41	
		6	0.2125	92.98	0.2218	90.94	0.2376	80.17	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2349	91.86	0.2611	88.54	0.2220	80.21	
		5	0.2148	92.98	0.2561	88.61	0.2374	80.18	
		6	0.2144	92.98	0.2329	90.87	0.2380	80.15	
	1766-1354 892-845	4	0.2371	91.84	0.2637	88.50	0.2330	80.69	
		5	0.2162	92.97	0.2601	88.55	0.2393	80.10	
		6	0.2157	92.97	0.2369	90.83	0.2409	80.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2344	91.86	0.2611	88.54	0.2200	80.54	
		5	0.2150	92.97	0.2563	88.61	0.2377	80.17	
		6	0.2146	92.98	0.2338	90.86	0.2386	80.18	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2314	91.89	0.2433	89.77	0.2799	76.26
	1175-1139	5	0.2164	92.97	0.2376	90.83	0.2519	77.42
	892-845	6	0.2147	92.98	0.2406	89.80	0.2470	80.70
	1766-1354	4	0.2349	91.86	0.2479	89.72	0.2896	75.29
	892-845	5	0.2180	92.96	0.2434	89.77	0.2515	77.45
		6	0.2168	92.97	0.2449	89.75	0.2566	77.12
	1766-1354	4	0.2296	91.90	0.2403	89.80	0.2684	77.26
	1175-1139	5	0.2171	92.97	0.2380	90.82	0.2511	77.47
		6	0.2160	92.97	0.2426	89.78	0.2558	77.17
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.2405	90.81	0.2729	88.34	0.2116	82.07
	1175-1139	5	0.2351	91.86	0.2890	87.02	0.2908	75.17
	892-845	6	0.2132	92.98	0.2356	90.84	0.2381	80.15
	1766-1354	4	0.2369	91.84	0.2756	88.29	0.2020	82.83
	892-845	5	0.2338	91.87	0.2899	87.01	0.2737	76.81
		6	0.2133	92.98	0.2357	90.84	0.2420	80.97
	1766-1354	4	0.2362	91.85	0.2726	88.35	0.2995	74.19
	1175-1139	5	0.2335	91.87	0.2868	87.07	0.2808	75.17
		6	0.2129	92.98	0.2358	90.84	0.2377	80.17
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.2321	91.88	0.2438	89.76	0.2793	76.31
	1175-1139	5	0.2174	92.97	0.2405	89.80	0.2499	77.54
	892-845	6	0.2163	92.97	0.2430	89.77	0.2541	77.28
	1766-1354	4	0.2333	91.87	0.2454	89.75	0.2807	75.18
	892-845	5	0.2183	92.96	0.2429	89.77	0.2496	77.55
		6	0.2169	92.97	0.2445	89.76	0.2578	77.04
	1766-1354	4	0.2313	91.89	0.2423	89.78	0.2718	76.98
	1175-1139	5	0.2182	92.96	0.2409	89.79	0.2506	77.49
		6	0.2169	92.97	0.2444	89.76	0.2582	77.01

Tableau 2.30 : Caractéristiques des modèles PLS basés sur l'utilisation de mesures ATR sur des spectres de film séché pour la prédiction d'échantillons synthétiques.

Composés	Traitements spectrales	Model sélectionné	Région spectrale $\text{cm}^{-1}$	LV	$RMSEE$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{CV}$	$RMSECV$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Cal}$	$RMSEP$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Pred}$
Acide salicylique	<b>Mod.1</b>	Correction d'offset	895-550	5	0.231	98.47	0.336	96.23	0.545	57.82
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	<b>Mod.2</b>	Pas de prétraitements	1240-550	5	0.341	94.15	0.624	78.48	0.346	63.22
Acide vanillique	<b>Mod.3</b>	Pas de prétraitements	1240-550	4	0.083	99.09	0.145	96.9	0.186	56.58
Acide salicylique	<b>Mod.4</b>	Première dérivée	1852-1586 1240-550	4	0.268	97.88	0.297	97.06	0.131	95.81
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	<b>Mod.5</b>	Normalisation vectorielle	1852-1238 895-550	6	0.173	98.61	0.193	97.94	0.160	71.21

Acide vanillique	Mod.6	Correction d'offset	1240-893	+	0.154	96.88	0.171	95.69	0.111	91.05

Les mélanges synthétiques contiennent de 0,57 à 3,06 d'acide salicylique, de 0,7 à 2,26 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de 0,38 à 1,23 d'acide vanillique représenté par Mod.1, Mod.2 et Mod.3 et pour la prédiction de nouvelles séries d'échantillons contenant de 0,61 à 3,02 acide salicylique, de 1,11 à 2,21 pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque et de 0,4 à 1,43 pour l'acide vanillique représenté par Mod. 4, Mod.5 et Mod.6, étant l'augmentation de la concentration des trois composés considérés différents dans chaque concentration.

Tableau 2.31 : Comparaison de la concentration prévue en utilisant la méthode PLS-IRTF-ATR et des valeurs réelles d'échantillons synthétiques supplémentaires en appliquant respectivement le mod.4, le mod.5 et le mod.6 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, indiqué dans le tableau 2.30.

Echantillon synthétique	Acide salicylique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Acide vanillique	
	Théorique	Calculé ATR	Théorique	Calculé ATR	Théorique	Calculé ATR
M6	2.03	1.90 ± 0.09 (-6.4%)	1.50	1.48 ± 0.15 (-1.6%)	0.41	0.47 ± 0.01 (15%)
M7	3.02	3.00 ± 0.05 (-0.5%)	2.21	2.35 ± 0.09 (6.8%)	0.61	0.64 ± 0.09 (4.9%)
M8	1.42	1.20 ± 0.05 (-14%)	1.70	1.78 ± 0.09 (4.6%)	1.22	1.10 ± 0.08 (-10%)
M9	0.61	0.70 ± 0.08 (15%)	1.11	1.09 ± 0.06 (-1.3%)	1.02	0.80 ± 0.03 (-21%)
M10	1.10	1.30 ± 0.1 (18%)	1.80	1.78 ± 0.07 (-1.2%)	1.43	1.44 ± 0.13 (0.8%)

Tableau 2.32 : Comparaison entre les concentrations réelles d'échantillons synthétiques et les données obtenues par PLS-IRTF-transmission et PLS-IRTF-ATR en appliquant respectivement le mod.1, le mod.2 et le mod.3 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, illustré dans le tableau 2.30 et mod.1, mod.2 et mod.3 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique, respectivement, présentés dans le tableau 2.30.

ES	Acide Salicylique			Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque			Acide Vanillique		
	Th	Calculé		Th	Calculé		Th	Calculé	
		Trans	ATR		Trans	ATR		Trans	ATR
M1	0.57	0.70±0.01 (22%)	0.60±0.16 (5.3%)	0.70	0.80±0.03 (14%)	0.70±0.15 (0.0%)	0.38	0.30±0.01 (-21%)	0.50±0.06 (31%)
M2	1.06	1.10±0.03 (3.7%)	1.20±0.09 (13%)	1.21	1.20±0.03 (-3.0%)	1.30±0.17 (7.6%)	0.59	0.40±0.04 (-32%)	0.70±0.05 (18%)
M3	1.40	1.40±0.03 (0.0%)	1.40±0.36 (0.0%)	1.53	1.50±0.03 (-2.2%)	1.4±0.3 (-8.6%)	0.79	0.90±0.01 (13%)	0.80±0.17 (1.3%)
M4	2.00	1.90±0.02 (-5.14%)	1.90±0.37 (-5.1%)	1.86	1.80±0.03 (-3.0%)	1.8±0.3 (-3.0%)	1.04	1.20±0.02 (15%)	1.00±0.05 (-4.0%)
M5	3.06	2.80±0.02 (-8.5%)	2.40±0.27 (-21.5%)	2.26	2.20±0.01 (-2.8%)	2.20±0.24 (-2.8%)	1.23	1.30±0.01 (6.0%)	1.10±0.06 (-10%)

Remarque: toutes les concentrations sont exprimées en mg mL<sup>-1</sup>. Th : Théorique. Trans : Transmission.

### 2.3.3.2.2 Calibration multivariée PLS de mélanges d'acides phénoliques de différentes classes par mesures ATR-IRTF

Les gammes spectrales comprises entre 1804-1586 cm<sup>-1</sup>, 1804-1238 cm<sup>-1</sup>, 1586-1238 cm<sup>-1</sup>, 1240-893 cm<sup>-1</sup> et 895-550 cm<sup>-1</sup> ont été testées pour ATR-IRTF. Les meilleurs modèles ont été choisis en tenant compte de la capacité prédictive d'un ensemble de mélanges des quatre composés considérés (tableaux 2.33-2.39 et figure 2.14).

En général, on peut conclure que les mesures ATR ont fourni un RMSEP plus faible que les spectres de transmission avec l'avantage supplémentaire de la possibilité

offerte d'analyser directement des extraits éthanoliques obtenus à partir de plantes sans avoir besoin de charger le solvant afin d'obtenir un créneau de nombre d'onde étendu sans interactions de solvants.

Dans cette étude nous avons optimisé tous ces paramètres et les résultats sont résumés dans les tableaux de 2.33 à 2.36 pour les quatre étalons. Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction *RMSEP*, de la calibration *RMSEE*, de la validation *RMSECV*, la variante latente (LV) ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (*RMSEP*), fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqués en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

Le tableau 2.38 et les informations dans le tableau 2.37 correspondent à la comparaison entre les valeurs de concentrations théoriques et trouvées entre les mesures de transmission et IRTF-ATR en appliquant les mod.1, mod.3, mod.5 et mod.7 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, eugénol et thymol, respectivement, indiqués dans le tableau 4, et mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, respectivement, présentés dans le tableau 2.37.

Cependant, les deux stratégies ont fourni des résultats précis pour la prédiction de l'ensemble de test et de la concentration dans les échantillons synthétiques, comme cela peut être confirmé à partir des données rapportées dans le tableau 2.38. La régression entre les résultats prédits (*y*) et la concentration théorique des échantillons a fourni l'équation  $y = 0,8625C - 0,154$  avec  $R^2 = 0,9980$  pour les mesures de transmission et  $y = 1,0375C + 0,098$  avec  $R^2 = 0,9990$  pour les spectres ATR.

D'autre part, l'incorporation de cinq échantillons supplémentaires pour la prédiction de leurs concentrations par des mesures ATR-IRTF sur film éthanolique séché (tableau 2.39) a inclus une fois de plus la précision de cette méthodologie fournissant une bonne équation de régression de  $y = 1,1052C + 0,084$  avec  $R^2 = 0,9995$  pour les dix échantillons analysés de cette manière.

Les coefficients de régression linéaire élevés associés à un *RMSEP* faible et un *RMSECV* faible témoignent de la robustesse des modèles construits.

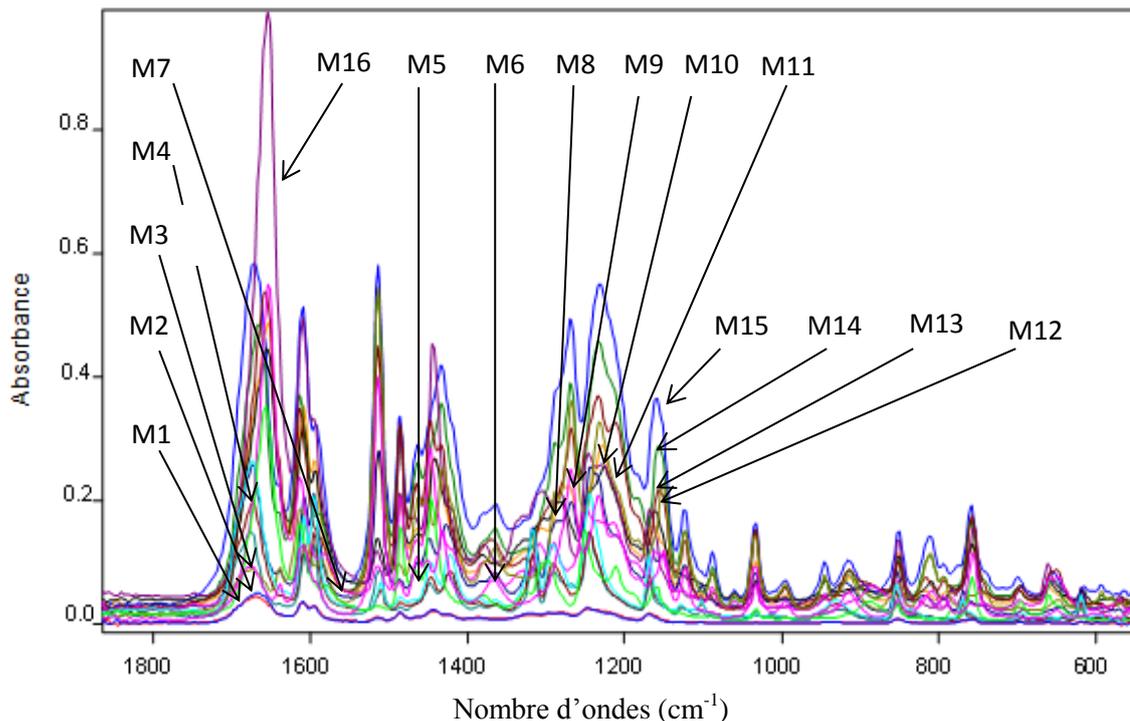


Figure 2.14 : Spectres PLS-IRTF-ATR des acides phénoliques de différentes classes (acide salicylique, acide *p*-hydroxybenzoïque, eugénol et thymol) de seize mélanges de calibration préparés dans l'éthanol. Les spectres ont été obtenus avec 50 scans et une résolution de 4 cm<sup>-1</sup>.

#### A) Acide *para*-hydroxybenzoïque

Tableau 2.33 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	RMSEE	R <sup>2</sup>	RMSECV	R <sup>2</sup>	RMSEP	R <sup>2</sup>
Pas de prétraitement	1766-1354	4	0.2422	72.95	0.2040	75.67	0.1476	74.72
	1175-1139	5	0.2309	73.97	0.2792	70.81	0.1423	74.78
	892-845	6	0.2285	75.98	0.2421	73.95	0.1580	70.58
	<b>1240-550</b>	<b>2</b>	<b>0.1320</b>	<b>91.71</b>	<b>0.1460</b>	<b>89.40</b>	<b>0.0710</b>	<b>82.93</b>
		<b>3</b>	<b>0.0870</b>	<b>96.43</b>	<b>0.0910</b>	<b>95.89</b>	<b>0.1050</b>	<b>61.85</b>
	<b>1586-550</b>	4	0.2251	75.99	0.2680	71.86	0.1570	70.59
		<b>3</b>	<b>0.1260</b>	<b>92.53</b>	<b>0.1310</b>	<b>91.56</b>	<b>0.0710</b>	<b>82.79</b>
		5	0.2291	75.98	0.2835	69.78	0.1439	74.79
		6	0.2252	75.98	0.2395	73.95	0.1595	70.55
		1766-1354	4	0.2419	72.97	0.2050	75.66	0.1576
1175-1139		5	0.2238	75.98	0.2523	72.92	0.1411	74.79
892-845		6	0.2217	75.99	0.2320	73.97	0.1343	75.85
		4	0.2483	72.93	0.2070	75.65	0.1480	74.71

Correction d'offset	1766-1354 892-845	5	0.2309	73.97	0.2939	68.73	0.1322	75.87
		6	0.2275	75.98	0.2436	73.88	0.1501	72.68
	1766-1354 1175-1139	4	0.2360	74.96	0.2984	68.70	0.1431	75.77
		5	0.2221	75.99	0.2794	70.81	0.1320	75.87
		6	0.2216	75.99	0.2331	73.97	0.1367	75.83
		4	0.2328	74.97	0.2663	71.86	0.1942	70.88
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	5	0.2232	75.98	0.2539	72.91	0.1796	72.20
		6	0.2281	75.79	0.2285	74.97	0.1365	75.83
		4	0.2459	73.94	0.2849	69.78	0.2260	68.99
	1766-1354 892-845	5	0.2316	74.97	0.2714	70.84	0.2040	70.64
		6	0.2247	75.98	0.2396	73.95	0.1396	75.80
		4	0.2351	74.96	0.2668	71.86	0.1959	70.84
	1766-1354 1175-1139	5	0.2245	75.98	0.2550	72.91	0.1806	72.18
		6	0.2294	75.99	0.2306	73.97	0.1364	75.83

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2214	75.88	0.2319	73.53	0.1418	75.78	
		5	0.2212	75.88	0.2228	73.98	0.1439	75.76	
		6	0.2210	75.88	0.2253	73.98	0.1430	75.77	
	1766-1354 892-845	4	0.2369	74.96	0.2543	72.91	0.1511	74.67	
		5	0.2239	75.99	0.2356	73.96	0.1433	75.76	
		6	0.2230	75.99	0.2278	73.98	0.1397	75.80	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2236	75.99	0.2347	73.96	0.1427	75.77	
		5	0.2214	75.88	0.2220	73.99	0.1441	75.76	
		6	0.2208	75.89	0.2266	73.98	0.1435	75.76	
	Dérivée seconde	<b>1586-1238</b> <b>895-550</b>	<b>2</b>	<b>0.1770</b>	<b>85.09</b>	<b>0.1830</b>	<b>83.41</b>	<b>0.0460</b>	<b>92.86</b>
			3	0.2220	75.86	0.2244	73.98	0.1491	75.70
			4	0.2212	75.88	0.2297	73.97	0.1470	75.72
<b>1586-1238</b>		<b>2</b>	<b>0.2120</b>	<b>78.73</b>	<b>0.2320</b>	<b>73.53</b>	<b>0.0530</b>	<b>90.24</b>	
		<b>3</b>	<b>0.1630</b>	<b>87.55</b>	<b>0.1700</b>	<b>85.65</b>	<b>0.0590</b>	<b>87.92</b>	
		4	0.2214	75.88	0.2316	73.53	0.1468	75.73	
<b>1586-550</b>		<b>2</b>	<b>0.1730</b>	<b>85.73</b>	<b>0.1910</b>	<b>82.05</b>	<b>0.0640</b>	<b>85.78</b>	
		3	0.2218	75.87	0.2237	73.98	0.1485	75.70	
		4	0.2213	75.88	0.2298	73.97	0.1469	75.72	
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2269	75.77	0.2396	73.95	0.1403	75.80	
		5	0.2222	75.86	0.2259	73.98	0.1426	75.77	
		6	0.2219	75.86	0.2283	73.98	0.1430	75.77	
	1766-1354 892-845	4	0.2388	74.96	0.2572	72.90	0.1442	75.75	
		5	0.2238	75.99	0.2347	73.96	0.1411	75.79	
		6	0.2232	75.99	0.2287	73.97	0.1416	75.78	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2292	75.88	0.2427	73.94	0.1456	75.74	
		5	0.2231	75.96	0.2261	73.98	0.1444	75.75	
		6	0.2215	75.99	0.2285	73.97	0.1420	75.78	

*B) Acide salicylique*

Tableau 2.34 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour l'acide salicylique par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2978	89.51	0.3580	86.64	0.3380	55.16	
		5	0.2589	93.82	0.3460	86.83	0.2915	57.19	
		6	0.2541	93.85	0.3520	86.73	0.2641	56.60	
	<b>895-550</b>	2	<b>0.1810</b>	<b>96.12</b>	<b>0.1850</b>	<b>95.79</b>	<b>0.1300</b>	<b>85.46</b>	
		3	<b>0.1200</b>	<b>98.30</b>	<b>0.1280</b>	<b>97.98</b>	<b>0.2000</b>	<b>65.65</b>	
		4	0.2739	91.73	0.3030	88.73	0.2909	57.20	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2917	89.57	0.3500	86.77	0.3490	55.86	
		5	0.2579	93.83	0.3390	87.95	0.2912	57.20	
		6	0.2539	93.85	0.3560	86.67	0.2738	57.48	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2981	89.51	0.3490	86.78	0.3400	55.11
			5	0.2461	93.89	0.3270	87.12	0.3090	56.85
			6	0.2441	93.90	0.2962	89.49	0.2753	57.45
<b>895-550</b>		2	<b>0.1830</b>	<b>96.02</b>	<b>0.1880</b>	<b>95.65</b>	<b>0.1410</b>	<b>83.03</b>	
		3	<b>0.1470</b>	<b>97.48</b>	<b>0.1560</b>	<b>97.01</b>	<b>0.2000</b>	<b>65.60</b>	
		4	<b>0.1330</b>	<b>97.95</b>	<b>0.1420</b>	<b>97.52</b>	<b>0.2030</b>	<b>64.62</b>	
1766-1354 1175-1139		4	0.2912	89.57	0.3410	86.91	0.3460	55.95	
		5	0.2489	93.88	0.3190	87.22	0.3070	56.90	
		6	0.2468	93.89	0.3200	87.11	0.2784	57.41	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2701	91.75	0.2941	89.51	0.3350	55.23	
		5	0.2600	92.82	0.2968	89.49	0.2910	57.20	
		6	0.2518	93.87	0.3170	88.25	0.3280	55.42	
	<b>1586-550</b>	2	<b>0.2130</b>	<b>94.60</b>	<b>0.2200</b>	<b>94.01</b>	<b>0.1510</b>	<b>80.35</b>	
		3	<b>0.1700</b>	<b>69.61</b>	<b>0.1830</b>	<b>95.88</b>	<b>0.2070</b>	<b>63.15</b>	
		4	0.2628	92.80	0.3420	86.89	0.3340	55.95	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2749	91.71	0.3010	88.44	0.3460	55.55	
		5	0.2643	92.79	0.3030	88.41	0.2968	57.10	
		6	0.2558	93.84	0.3270	87.12	0.3330	55.89	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2387	93.92	0.3478	86.87	0.3828	52.34
	1175-1139	5	0.2279	93.96	0.3481	86.87	0.3866	52.28
	892-845	6	0.2253	94.97	0.3648	85.77	0.3130	55.77
	1766-1354	4	0.2543	93.85	0.3669	85.75	0.3020	56.00
	892-845	5	0.2341	93.94	0.3757	84.69	0.3954	52.12
		6	0.2302	93.95	0.3754	84.69	0.3300	55.37
	1766-1354	4	0.2424	93.91	0.3539	86.84	0.3130	55.78
	1175-1139	5	0.2308	93.95	0.3598	86.80	0.3070	56.89
		6	0.2250	94.97	0.3696	85.73	0.3270	55.44
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.3150	90.32	0.4450	78.85	0.3600	53.52
	1175-1139	5	0.2277	94.96	0.3585	86.81	0.3980	52.08
	892-845	6	0.2233	94.97	0.3552	86.83	0.3050	56.94
	1766-1354	4	0.3210	90.25	0.4520	78.73	0.3690	53.25
	892-845	5	0.2299	94.95	0.3512	86.86	0.3050	56.94
		6	0.2262	94.97	0.3577	86.82	0.3220	55.57
	1766-1354	4	0.3310	90.12	0.4660	78.49	0.3710	53.18
	1175-1139	5	0.2307	93.95	0.3551	86.83	0.3090	56.85
		6	0.2248	94.97	0.3667	85.76	0.3100	55.83
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.2433	93.90	0.3539	86.84	0.3975	52.08
	1175-1139	5	0.2303	93.95	0.3675	85.75	0.3949	52.13
	892-845	6	0.2261	94.97	0.3583	86.81	0.3240	55.52
	1766-1354	4	0.2546	93.85	0.3677	85.75	0.3110	55.81
	892-845	5	0.2342	93.94	0.3604	85.80	0.3030	56.97
		6	0.2294	94.96	0.3752	84.69	0.3360	55.21
	1766-1354	4	0.2499	93.87	0.3639	85.78	0.3330	55.29
	1175-1139	5	0.2344	93.94	0.3546	86.84	0.3200	55.62
		6	0.2238	94.97	0.3756	84.69	0.3200	55.61

## C) Eugénol

Tableau 2.35 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation de l'eugénol par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2245	95.93	0.2474	94.72	0.3370	89.19	
		5	0.2141	96.98	0.2380	94.82	0.3297	90.48	
		6	0.2127	96.98	0.2284	95.90	0.3359	89.24	
	1766-1354 892-845	4	0.2249	95.93	0.2450	94.75	0.3471	88.70	
		5	0.2150	96.97	0.2400	94.80	0.3338	89.33	
		6	0.2146	96.98	0.2376	94.83	0.3337	89.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2228	95.94	0.2430	94.77	0.3418	88.98	
		5	0.2131	96.98	0.2361	94.84	0.3341	89.32	
		6	0.2128	96.98	0.2376	94.89	0.3357	89.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2257	95.92	0.2484	94.71	0.3327	89.37
			5	0.2152	96.97	0.2355	94.84	0.3290	90.51
			6	0.2123	96.98	0.2224	95.94	0.3386	89.13
1766-1354 892-845		4	0.2245	95.93	0.2435	94.77	0.3439	88.87	
		5	0.2145	96.98	0.2367	94.83	0.3364	89.22	
		6	0.2136	96.98	0.2286	95.90	0.3386	89.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.2230	95.94	0.2424	94.78	0.3369	89.20	
		5	0.2143	96.98	0.2342	94.86	0.3317	89.41	
		6	0.2125	96.98	0.2218	95.94	0.3376	89.17	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2349	95.86	0.2611	93.54	0.4220	86.21
			5	0.2148	96.98	0.2561	93.61	0.3374	89.18
			6	0.2144	96.98	0.2329	94.87	0.3380	89.15
	1766-1354 892-845	4	0.2371	95.84	0.2637	93.50	0.4330	86.39	
		5	0.2162	96.97	0.2601	93.55	0.3393	89.10	
		6	0.2157	96.97	0.2369	94.83	0.3409	89.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2344	95.86	0.2611	93.54	0.4200	86.54	
		5	0.2150	96.97	0.2563	93.61	0.3377	89.17	
		6	0.2146	96.98	0.2338	94.86	0.3386	89.18	

(Suite)

Dérivée première	<b>1804-1586 1240-550</b>	4	0.2314	95.89	0.2433	94.77	0.3799	87.26	
		<b>5</b>	<b>0.1680</b>	<b>98.54</b>	<b>0.1970</b>	<b>97.75</b>	<b>0.2820</b>	<b>93.78</b>	
		6	0.2147	96.98	0.2406	94.80	0.3470	89.70	
	<b>1240-893</b>	<b>4</b>	<b>0.1640</b>	<b>98.57</b>	<b>0.1850</b>	<b>98.01</b>	<b>0.1670</b>	<b>97.81</b>	
		<b>5</b>	<b>0.1390</b>	<b>99.01</b>	<b>0.1690</b>	<b>98.34</b>	<b>0.2020</b>	<b>96.81</b>	
		<b>6</b>	<b>0.1330</b>	<b>99.10</b>	<b>0.1580</b>	<b>98.56</b>	<b>0.2140</b>	<b>96.41</b>	
	<b>1804-550</b>	4	0.2296	96.90	0.2403	94.80	0.3684	87.26	
		<b>5</b>	<b>0.1590</b>	<b>98.69</b>	<b>0.1950</b>	<b>97.79</b>	<b>0.2710</b>	<b>94.23</b>	
		6	0.2160	96.97	0.2426	94.78	0.3558	89.17	
	<b>1804-1586 1240-893</b>	<b>5</b>	<b>0.1700</b>	<b>98.51</b>	<b>0.1960</b>	<b>97.78</b>	<b>0.2770</b>	<b>93.98</b>	
		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2405	94.81	0.2729	93.34	0.3116	90.07
			<b>5</b>	<b>0.2351</b>	<b>95.86</b>	<b>0.2890</b>	<b>92.02</b>	<b>0.3908</b>	<b>86.17</b>
6	0.2132		96.98	0.2356	95.84	0.3381	89.95		
Dérivée seconde	1766-1354 892-845	4	0.2369	95.84	0.2756	93.29	0.3020	90.83	
		<b>5</b>	<b>0.2338</b>	<b>95.87</b>	<b>0.2899</b>	<b>91.97</b>	<b>0.3737</b>	<b>87.81</b>	
		6	0.2133	96.98	0.2357	95.84	0.3420	89.97	
1766-1354 1175-1139	4	0.2362	95.85	0.2726	93.35	0.3995	86.19		
	<b>5</b>	<b>0.2335</b>	<b>95.87</b>	<b>0.2868</b>	<b>92.07</b>	<b>0.3808</b>	<b>87.17</b>		
	6	0.2129	96.98	0.2358	95.84	0.3377	89.17		
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2321	95.88	0.2438	94.76	0.3793	87.31	
		<b>5</b>	<b>0.2174</b>	<b>96.97</b>	<b>0.2405</b>	<b>94.80</b>	<b>0.3499</b>	<b>89.54</b>	
		6	0.2163	96.97	0.2430	94.77	0.3541	89.28	
	1766-1354 892-845	4	0.2333	95.87	0.2454	94.75	0.3807	87.18	
		<b>5</b>	<b>0.2183</b>	<b>96.96</b>	<b>0.2429</b>	<b>94.77</b>	<b>0.3496</b>	<b>89.55</b>	
		6	0.2169	96.97	0.2445	94.76	0.3578	89.04	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2313	95.89	0.2423	94.78	0.3718	87.98	
		<b>5</b>	<b>0.2182</b>	<b>96.96</b>	<b>0.2409</b>	<b>94.79</b>	<b>0.3506</b>	<b>89.49</b>	
		6	0.2169	96.97	0.2444	94.76	0.3582	89.01	

## D) Thymol

Tableau 2.36 : Résultats d'optimisation, de calibrage et de validation pour le thymol par PLS-ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	LV	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2432	95.13	0.3240	94.38	0.3210	91.28	
		5	0.2311	95.56	0.3845	92.48	0.2212	95.69	
		6	0.2163	96.88	0.3441	93.04	0.2249	95.20	
	1766-1354 892-845	4	0.2444	95.09	0.3490	93.22	0.2504	93.60	
		5	0.2398	95.28	0.3090	96.13	0.2542	93.46	
		6	0.2325	95.52	0.3629	93.05	0.2536	93.65	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2361	95.40	0.3220	94.65	0.2788	92.93	
		5	0.2295	96.60	0.3850	92.43	0.2242	95.64	
		6	0.2127	96.93	0.3435	93.07	0.2285	95.30	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2466	95.10	0.3240	94.88	0.3970	88.65
			5	0.2212	96.80	0.3789	92.93	0.2281	94.91
			6	0.2141	96.91	0.3319	94.50	0.2418	94.71
1766-1354 892-845		4	0.2452	95.06	0.3470	93.66	0.3440	90.03	
		5	0.2332	95.50	0.3140	95.53	0.2306	94.28	
		6	0.2307	95.58	0.3566	93.42	0.2382	94.76	
1766-1354 1175-1139		4	0.2387	95.31	0.3220	94.69	0.3560	90.34	
		5	0.2214	96.79	0.3840	92.51	0.2277	94.97	
		6	0.2166	96.88	0.3322	94.49	0.2323	94.78	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2343	95.46	0.3806	92.80	0.2795	92.62
			5	0.2304	95.58	0.3596	93.24	0.2579	93.24
			6	0.2230	96.76	0.3514	93.70	0.2498	94.79
	1766-1354 892-845	4	0.2368	95.37	0.3807	92.78	0.2882	92.36	
		5	0.2333	95.49	0.3608	93.18	0.2613	93.07	
		6	0.2272	96.67	0.3615	93.13	0.2535	93.68	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2366	95.38	0.3835	92.56	0.2875	92.73	
		5	0.2329	95.51	0.3621	93.09	0.2620	93.81	
		6	0.2261	96.69	0.3584	93.31	0.2525	93.97	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2126	96.93	0.3363	94.35	0.2362	95.19	
	1175-1139	5	0.2106	96.95	0.3277	94.62	0.2373	95.95	
	892-845	6	0.2079	96.97	0.3193	94.82	0.2205	95.78	
	<b>1804-1238</b>	4	0.2158	96.88	0.3385	94.27	0.2481	94.27	
		5	<b>0.1860</b>	<b>98.36</b>	<b>0.2080</b>	<b>97.47</b>	<b>0.1860</b>	<b>98.36</b>	
		6	0.2087	96.97	0.3234	94.73	0.2227	95.50	
	1766-1354 1175-1139	4	0.2154	96.89	0.3405	94.19	0.2588	93.94	
		5	0.2140	96.91	0.3260	94.67	0.2428	94.67	
		6	0.2112	96.94	0.3234	94.73	0.2273	95.83	
Dérivée seconde	<b>1804-1238</b> <b>895-550</b>	4	0.2788	96.13	0.3962	92.43	0.2662	92.25	
		5	<b>0.1660</b>	<b>98.69</b>	<b>0.1960</b>	<b>97.75</b>	<b>0.1660</b>	<b>98.69</b>	
		6	0.2109	96.95	0.3179	94.84	0.2215	95.66	
	<b>1804-550</b>	4	<b>0.1810</b>	<b>98.39</b>	<b>0.2120</b>	<b>97.36</b>	<b>0.1440</b>	<b>80.89</b>	
		5	0.2130	96.92	0.3198	94.81	0.2454	74.33	
		6	0.2113	96.94	0.3207	94.79	0.2259	75.05	
	<b>1804-893</b>	4	<b>0.1810</b>	<b>98.38</b>	<b>0.2120</b>	<b>97.36</b>	<b>0.1460</b>	<b>80.38</b>	
		5	0.2151	96.90	0.3292	94.58	0.2496	74.84	
		6	0.2120	96.94	0.3209	94.79	0.2246	75.24	
	<b>1804-1586</b> <b>1240-550</b>	<b>4</b>	<b>0.2220</b>	<b>97.56</b>	<b>0.2460</b>	<b>96.45</b>	<b>0.1520</b>	<b>78.58</b>	
	Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.2139	96.91	0.3372	94.32	0.2487	74.10
		1175-1139	5	0.2126	96.93	0.3261	94.66	0.2333	74.78
892-845		6	0.2099	96.96	0.3212	94.78	0.2236	75.38	
<b>1804-1238</b> <b>895-550</b>		4	0.2161	96.88	0.3381	94.28	0.2526	73.95	
		5	<b>0.1850</b>	<b>98.38</b>	<b>0.2080</b>	<b>97.47</b>	<b>0.1420</b>	<b>81.30</b>	
		6	0.2092	96.96	0.3244	94.71	0.2226	75.52	
<b>1804-1238</b>		4	0.2186	96.84	0.3432	94.08	0.2748	71.74	
		5	<b>0.1850</b>	<b>98.37</b>	<b>0.2080</b>	<b>97.47</b>	<b>0.1450</b>	<b>80.67</b>	
		6	0.2135	96.92	0.3280	94.61	0.2328	94.88	

Tableau 2.37 : Modèles PLS sélectionnés d'acides phénoliques de différentes classes par ATR-IRTF sur film éthanolique.

Composés	Traitements spectrales	Model sélectionné	Région spectrale $\text{cm}^{-1}$	LV	$RMSEE$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Cal}$	$RMSECV$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{CV}$	$RMSEP$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Pred}$
Acide Salicylique	Mod.1	Pas de traitements	895-550	2	0.181	96.12	0.185	95.79	0.130	85.46
	Mod.2			3	0.120	98.30	0.128	97.98	0.200	65.65
	Mod.3	Correction d'offset	895-550	2	0.183	96.02	0.188	95.65	0.141	83.03
	Mod.4			3	0.147	97.48	0.156	97.01	0.200	65.60
	Mod.5			4	0.133	97.95	0.142	97.52	0.203	64.62
	Mod.6	Soustraction d'une ligne	1586-550	2	0.213	94.60	0.220	94.01	0.151	80.35
	Mod.7			3	0.170	69.61	0.183	95.88	0.207	63.15
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Mod.8	Dérivée seconde	1586-1238 895-550	2	0.177	85.09	0.183	83.41	0.046	92.86
	Mod.9			2	0.212	78.73	0.232	73.53	0.053	90.24
	Mod.10			3	0.163	87.55	0.170	85.65	0.059	87.92

	Mod.11		1586-550	2	0.173	85.73	0.191	82.05	0.064	85.78
	Mod.12	Pas de traitements	1240-550	2	0.132	91.71	0.146	89.40	0.071	82.93
	Mod.13			3	0.087	96.43	0.091	95.89	0.105	61.85
	Mod.14			3	0.126	92.53	0.131	91.56	0.071	82.79
Eugénol	Mod.15	Dérivée première	1804-1586 1240-550	5	0.168	98.54	0.197	97.75	0.282	93.78
	Mod.16			4	0.164	98.57	0.185	98.01	0.167	97.81
	Mod.17		1240-893	5	0.139	99.01	0.169	98.34	0.202	96.81
	Mod.18			6	0.133	99.10	0.158	98.56	0.214	96.41
	Mod.19		1804-550	5	0.159	98.69	0.195	97.79	0.271	94.23
	Mod.20		1804-1586 1240-893	5	0.170	98.51	0.196	97.78	0.277	93.98
Thymol	Mod.21	Dérivée première	1804-1238	5	0.186	98.36	0.208	97.47	0.145	80.61
	Mod.22	Dérivée seconde	1804-1238 895-550	5	0.166	98.69	0.196	97.75	0.129	84.56

	Mod.23		1804-550	4	0.181	98.39	0.212	97.36	0.144	80.89
	Mod.24		1804-893	4	0.181	98.38	0.212	97.36	0.146	80.38
	Mod.25		1804-1586 1240-550	4	0.222	97.56	0.246	96.45	0.152	78.58
	Mod.26	Dérivée première+ soustraction d'une droite	1804-1238 895-550	5	0.185	98.38	0.208	97.47	0.142	81.30
	Mod.27		1804-1238	5	0.185	98.37	0.208	97.47	0.145	80.67

Tableau 2.38 : Comparaison entre les concentrations réelles de la première série d'échantillons synthétiques et théoriques prédites par transmission et ATR-IRTF en appliquant les mod.1, mod.3, mod.5 et mod.7 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, respectivement, présentés dans le tableau 2.21, et mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, respectivement, montrés dans le tableau 2.37.

ES	Th	Acide Salicylique mg mL <sup>-1</sup>			Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque mg mL <sup>-1</sup>			Eugénol mg mL <sup>-1</sup>			Thymol mg mL <sup>-1</sup>				
		Calculé		Th	Calculé		Th	Calculé		Th	Calculé		Th	Calculé	
		Trans	ATR	Th	Trans	ATR	Th	Trans	ATR	Th	Trans	ATR	Th	Trans	ATR
1	0.42	0.50±0.04 19.1%	0.41±0.11 (-2.4%)	0.31	0.33±0.02 (6.5%)	0.35±0.12 (12.9%)	0.73	0.71±0.03 (-2.7%)	0.65±0.12 (-11.0%)	0.61	0.68±0.07 (11.5%)	0.62±0.13 (1.6%)			
2	0.63	0.61±0.02 -3.2%	0.59±0.02 (-6.4%)	0.43	0.35±0.04 (-18.6%)	0.44±0.06 (2.3%)	1.21	1.17±0.03 (-3.3%)	1.22±0.16 (0.8%)	1.02	0.98±0.09 (-3.9%)	1.07±0.21 (4.9%)			
3	0.81	0.79±0.04 -2.5%	0.80±0.12 (1.3%)	0.51	0.48±0.02 (-5.9%)	0.53±0.08 (10.4%)	1.51	1.46±0.03 (-3.3%)	1.55±0.11 (7.8%)	1.41	1.36±0.04 (-3.6%)	1.44±0.18 (2.1%)			
4	1.03	1.07±0.03 3.9%	1.10±0.08 (6.8%)	0.62	0.59±0.05 (-4.8%)	0.64±0.05 (3.2%)	1.82	1.88±0.05 (3.3%)	1.78±0.02 (-2.2%)	2.03	2.01±0.04 (-1.0%)	2.08±0.24 (2.5%)			
5	1.22	1.19±0.03 -2.5%	1.24±0.16 (1.6%)	0.73	0.71±0.03 (-2.7%)	0.70±0.11 (-4.1%)	2.03	2.06±0.02 (1.5%)	2.10±0.12 (3.5%)	2.42	2.47±0.03 (2.1%)	2.37±0.18 (-2.1%)			

Remarque: valeurs moyennes ± écart type. Les valeurs entre parenthèses correspondent à une erreur relative.

Tableau 2.39 : Comparaison entre les concentrations réelles d'échantillons synthétiques supplémentaires (deuxième série) et les résultats prédits par ATR-IRTF en appliquant respectivement les mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 pour l'acide salicylique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, l'eugénol et le thymol, illustré dans le tableau 2.37.

ES	Acide Salicylique (mg mL <sup>-1</sup> )		Acide <i>p</i> - hydroxybenzoïque (mg mL <sup>-1</sup> )		Eugénol (mg mL <sup>-1</sup> )		Thymol (mg mL <sup>-1</sup> )	
	Th	Calculé	Th	Calculé	Th	Calculé	Th	Calculé
6	1.05	1.10±0.13 (4.8%)	0.41	0.42±0.06 (2.4%)	1.22	1.25±0.10 (2.5%)	0.61	0.64±0.09 (4.9%)
7	0.82	0.84±0.09 (2.4%)	0.31	0.33±0.08 (6.5%)	0.73	0.71±0.08 (-2.7%)	1.42	1.45±0.08 (2.1%)
8	0.44	0.42±0.10 (-4.5%)	0.53	0.54±0.08 (1.9%)	2.05	2.07±0.08 (1.0%)	1.03	1.07±0.06 (3.9%)
9	1.21	1.19±0.11 (-1.7%)	0.84	0.86±0.11 (2.4%)	1.52	1.55±0.09 (2.0%)	2.43	2.45±0.06 (0.8%)
10	0.62	0.61±0.13 (-1.6%)	0.72	0.71±0.14 (1.4%)	1.81	1.84±0.15 (1.7%)	3.05	3.07±0.09 (0.7%)

Remarque: valeurs moyennes ± écart type. Les valeurs entre parenthèses correspondent à une erreur relative.  
Th : Théorique. Trans : Transmission.

#### 2.3.4 Détermination de la teneur phénolique totale par la méthode Folin-Ciocalteu

Le contenu phénolique total a été déterminé par la méthode Folin-Ciocalteu [446]. Un millilitre d'extrait, obtenu par dilution préalable de 25 mg de chaque extrait dans 5 ml d'eau distillée, ont été ajoutés à 1 mL de réactif Folin-Ciocalteu dilué au 1:10. Au bout de 4 minutes, 12 ml d'une solution saturée de carbonate de sodium à 2% ont été ajoutés, le mélange obtenu a été complété à un volume final de 25 mL. Après 2 heures d'incubation à température ambiante, l'absorbance à 765 nm a été mesurée. Le domaine de concentration dynamique compris entre 2 et 80 µg mL<sup>-1</sup> de l'acide gallique a été utilisé pour l'étalonnage de la courbe standard, et seul le domaine compris entre 4 et 80 µg mL<sup>-1</sup> a vérifié la linéarité (figure 2.15).

Les résultats ont été exprimés dans la figure 2.15 en milligramme équivalent d'acide gallique (mg GAE)/g de poids sec de matière végétale

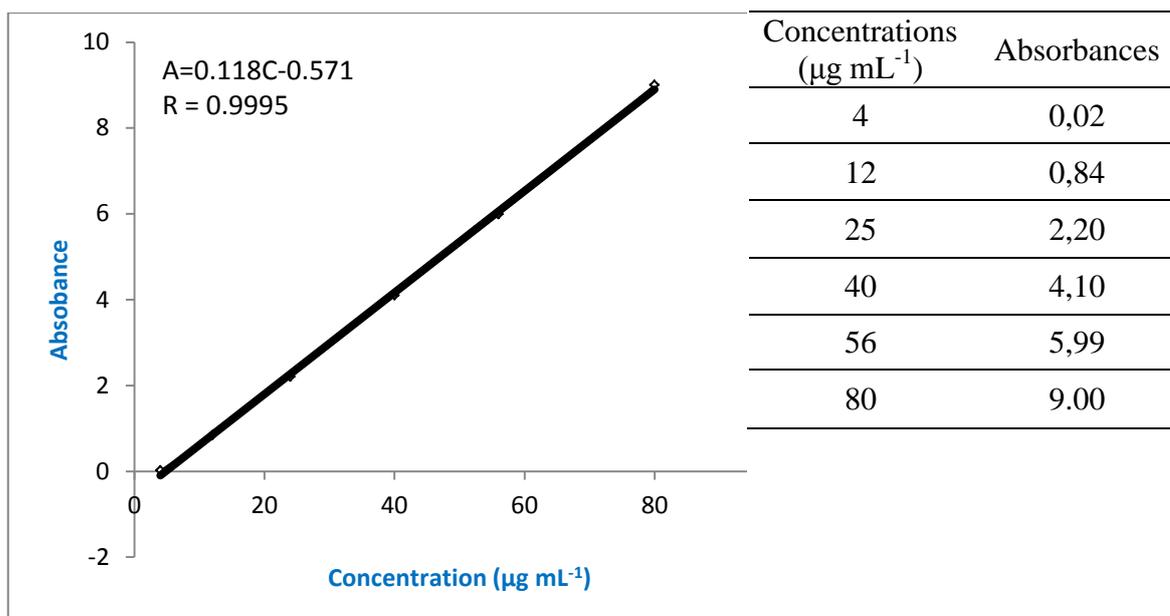


Figure 2.15 : Courbe de calibration de l'acide gallique dans une gamme de 4 à 80 µg mL<sup>-1</sup>.

Un dosage des phénols totaux de dix extraits de plantes (tableau 2.40) a été effectué avec la calibration faite précédemment, nous avons remarqué que le clou de girofle est le plus riche en phénols totaux suivie par le romarin et le thym, la blackstonia et la centaurée.

Tableau 2.40 : Concentration des extraits de plantes en phénols totaux selon la méthode Folin-Ciocalteu.

Echantillons synthétiques	Absorbance UV avec la méthode Folin-Ciocalteu	Concentration par extrapolation (µg mL <sup>-1</sup> )	Concentration en mg PT/1g d'extrait
Cannelle de chine	0.912	12.57	62.80
Romarin	1.770	19.84	99.20
Clou de girofle	3.000	30.26	151.3
Thym	1.363	16.39	81.96
Origan	1.178	14.82	74.00
Centaurée MeOH	1.224	15.21	76.00
Blackstonia MeOH	1.544	17.92	89.60
Centaurée MeOH/H <sub>2</sub> O	1.508	17.62	88.00
Cumin	0.600	9.92	49.60
Anis étoilé (HE)	0.120	5.86	29.30

### 2.3.5 Composition phénolique d'extraits de plantes par mesures ATR et Transmission-IRTF

Les figures 2.16-2.17 illustrent les spectres IRTF de composés phénoliques extraits de plantes médicinales à la fois en mode de transmission dans les zones spectrales entre 1687 et 845 cm<sup>-1</sup> (figure 2.16) et en mode ATR dans les zones spectrales entre 1852 et 550 cm<sup>-1</sup> (figure 2.17).

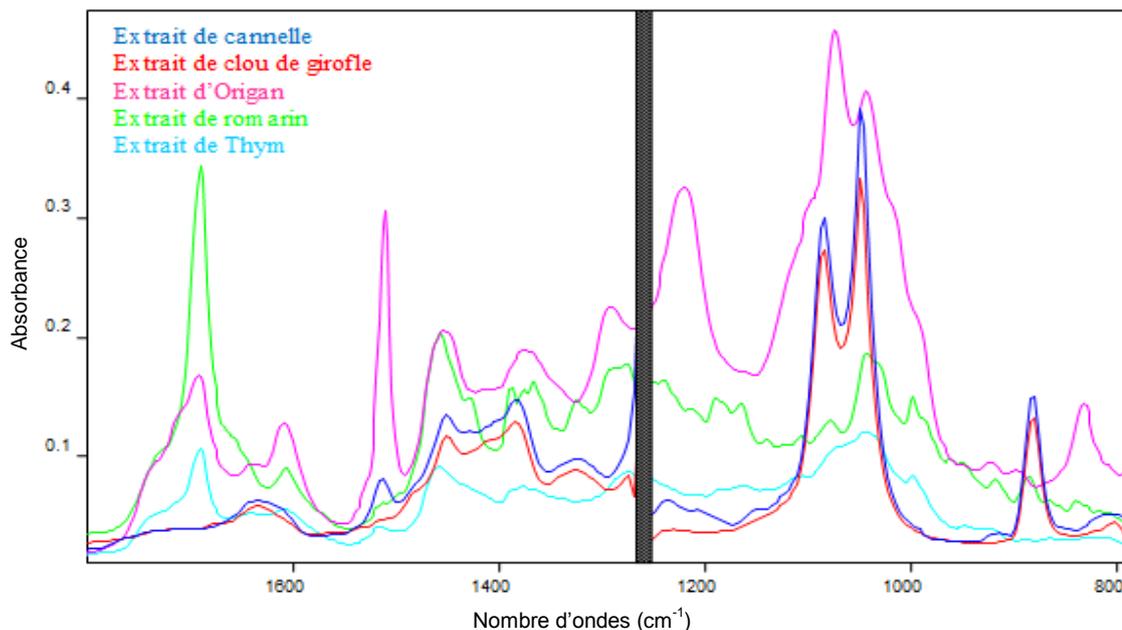


Figure 2.16 : Spectres IRTF/Transmission d'extraits de cannelle, de clou de girofle, d'origan, de romarin et de thym dans H<sub>2</sub>O/MeOH à volume égal pendant 72h, suivi d'une filtration sur papier Whatman et d'une évaporation à sec rotatif à 45°C et par dilution de 25 mg pour chaque extraits dans 5 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>: EtOH (90:10 v/v). Les spectres ont été obtenus en accumulant 25 balayages avec une résolution spectrale de 4 cm<sup>-1</sup>.

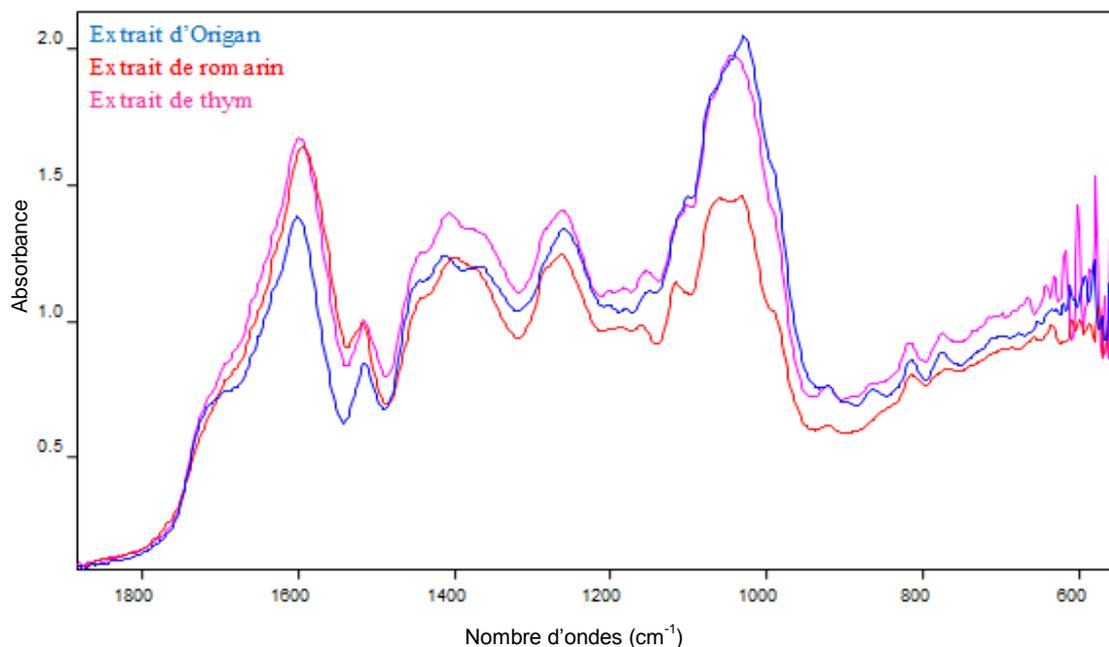


Figure 2.17 : Spectres IRTF/ATR d'extraits d'origan, de romarin et de thym en faisant macérer 0,5 g de plantes sèches dans 2 ml d'éthanol pendant 72 heures. Les spectres ont été obtenus en accumulant 50 balayages avec une résolution spectrale de 4 cm<sup>-1</sup> à partir du film sec formé par évaporation de 1 µl de chaque solution.

Le tableau 2.41 résume l'analyse des extraits de plantes, que ce soit pour les extraits H<sub>2</sub>O/MeOH et pour les extraits éthanoliques en utilisant des mesures de transmission et d'ATR. Avec les mesures de Transmission-IRTF et en utilisant comme solvants d'extraction eau/méthanol, la concentration en composé phénolique totaux en mg/1g d'extrait par la méthode Folin-Ciocalteu de l'extrait d'origan était de 46.52 mg/1g comparé à celle de l'eugénol égale à 35.84 mg/1g, la concentration en phénol totaux de l'extrait de cannelle de chine était de 35.85 mg/1g comparé à celle de l'acide trans-cinnamique et de l'eugénol égale à 12 et 17.92 mg/1g, respectivement. La concentration en phénol totaux de l'extrait de clou de girofle était de 119.4 mg/1g comparé à celle de l'eugénol et de l'acide vanillique égale à 80.32 et 21.60 mg/1g, respectivement. La concentration en phénol totaux du thym était de 53.9 mg/1g comparé à celle du thymol et de l'acide p-hydroxybenzoïque égale à 65.8 et 16.80 mg/1g, respectivement, et la concentration en phénol totaux du romarin était de 70.2 mg/1g comparé à celui de l'acide p-hydroxybenzoïque et de l'acide vanillique égale à 29.48 et 14.04 mg/1g, respectivement.

Avec les mesures d'ATR-IRTF et en utilisant comme solvant d'extraction l'éthanol pur, la concentration en composé phénolique totaux en mg/1g d'extrait par méthode Folin-Ciocalteu de l'extrait d'origan était de 93.5 mg/1g comparé à celui de l'acide p-coumarique égale à 27.51 mg/1g, la concentration en phénol totaux de l'extrait de thym était de 106.5 mg/1g comparé à ceux du thymol et de l'acide p-hydroxybenzoïque égale à 47.96 et 15.61 mg/1g, respectivement, la concentration en phénol totaux de l'extrait de romarin était de 121.5 mg/1g comparé à ceux de l'acide hydroxybenzoïque et de l'acide vanillique égale à 23.60 et 2.36 mg/1g, respectivement. Ces résultats montrent que lors de la quantification avec la prédiction externe, le taux d'acides phénoliques et de phénols monoterpéniques est plus faible qu'avec la méthode Folin-Ciocalteu, qui quantifie le taux de composés phénoliques totaux qui sont interférés avec d'autres composés, et donc le test avec un étalonnage PLS est plus spécifique et sélectif. Concernant la méthode d'analyse, les extraits analysés par mesure MIR-ATR montrent des taux de composés plus élevés par rapport aux extraits analysés par mesure transmission-IRTF, ce qui révèle que l'analyse par ATR-IRTF est plus sensible. Il est à noter que pour la prédiction externe, lorsqu'un étalon est dans un extrait à faible concentration (en dehors de la gamme d'étalonnage), nous n'avons pas été en mesure de quantifier le composé en question.

Tableau 2.41 : Quantification des composés phénoliques contenus dans les extraits de plantes par prédiction externe.

Solvant d'extraction	<u>Extraits de plantes :</u> ➤ Composition en acides phénoliques*	Modèles sélectionnés	Concentration d'acide phénolique par prédiction externe
H <sub>2</sub> O/MeOH (MIR-Transmission)	<u>Origan :</u> ➤ Acide p-coumarique ➤ Acide Caffeique ➤ Acide Rosmarinique ➤ Eugénol	Mod.5	0.448±0.059mg ml <sup>-1</sup> <b>35.84mg/1g</b>
	<u>Cannelle de chine :</u> ➤ Acide Trans-cinnamique ➤ Acide Salicylique	Mod.1	0300±0.043 mg ml <sup>-1</sup> <b>12mg/1g</b>
	➤ Eugénol	Mod.5	0.651±0.018mg ml <sup>-1</sup> <b>17.92mg/1g</b>
	<u>Clous de girofle :</u> ➤ Eugénol ➤ Acide Gallique ➤ Acide Vanillique	Mod.5	2.008± 0.074mg ml <sup>-1</sup> <b>80.32mg/1g</b>
	➤ Acide Vanillique	Mod.4	0.541± 0.061mg ml <sup>-1</sup> <b>21.60mg/1g</b>
	<u>Thym :</u> ➤ Thymol ➤ Acide Gallique ➤ Acide p-coumarique	Mod.7	1.645±0.071mg ml <sup>-1</sup> <b>65.8mg/1g</b>
	➤ Acide p-hydroxybenzoïque ➤ Acide Caffeique	Mod.3	0.423± 0.054mg ml <sup>-1</sup> <b>16.80mg/1g</b>
	<u>Romarin :</u> ➤ Acide p-hydroxybenzoïque	Mod.3	0.737±0.028mg ml <sup>-1</sup> <b>29.48mg/1g</b>
	➤ Acide Vanillique ➤ Acide Rosmarinique	Mod.4	0.351± 0.053mg ml <sup>-1</sup> <b>14.04mg/1g</b>
	EtOH extraction (MIR-ATR)	<u>Thym :</u> ➤ Thymol ➤ Acide Gallique ➤ Acide p-coumarique	Mod.22
➤ Acide p-hydroxybenzoïque ➤ Acide Caffeique		Mod.14	1.054± 0.044mg ml <sup>-1</sup> <b>15.61mg/1g</b>
<u>Romarin :</u> ➤ Acide p-hydroxybenzoïque		Mod.14	1.345±0.051mg ml <sup>-1</sup> <b>23.60mg/1g</b>
➤ Acide Vanillique ➤ Acide Rosmarinique ➤ Acide Caffeique		Mod.6	0.59± 0.063mg ml <sup>-1</sup> <b>2.36mg/1g</b>

	<b>Origan :</b> ➤ Acide p-coumarique ➤ Acide Caffeique ➤ Acide Rosmarinique ➤ Eugénol	<b>Mod.16</b>	$1.568 \pm 0.012 \text{ mg ml}^{-1}$ <b>27.51 mg/g</b>
--	---	---------------	---

### 2.3.6 Évaluation verte de la méthodologie développée ATR-IRTF-MIR et transmission-IRTF

Pour classer les méthodes analytiques dans l'échelle dite du certificat vert, les points de pénalité, associés à la quantité de réactif, au volume de déchets et aux quantités d'énergie consommées, sont calculés selon des critères établis dans la littérature [455] (illustrés sur la figure 2.18). Les résultats des tableaux 2.42-2.43 correspondent à la méthode d'analyse appartenant aux acides phénoliques de la même classe. Bien que les points de pénalité calculés soient similaires selon le certificat vert, l'analyse est préconisée par ATR qui est plus facile et plus rapide.

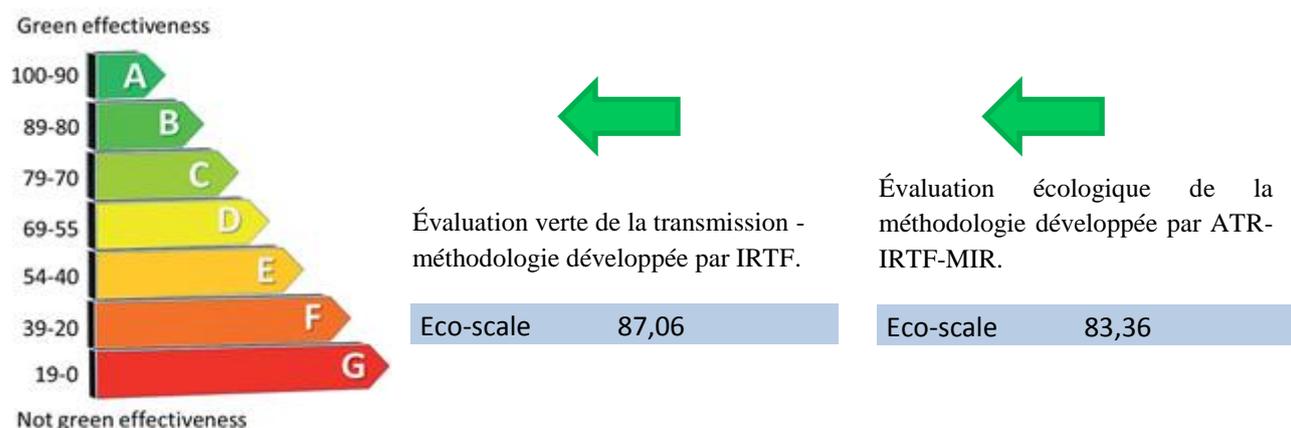


Figure 2.18 : Évaluation écologique des méthodologies de transmission-IRTF et ATR-IRTF-MIR [455].

Tableau 2.42 : Évaluation écologique (Green Evaluation) de la méthodologie de transmission-IRTF développée.

	Points de pénalité		Le risque		PP
		V (mL)			
Réactifs	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	65,5	1	2,23	2,23
	EtOH	7,5	2	1,14	2,28
Instruments	IRTF	/			
Emissions		0			
Déchets		75		8,44	8,44
				Eco-scale	87,06

Tableau 2.43 : Évaluation écologique de la méthode ATR-IRTF-MIR.

	Points de pénalité		Le risque		PP
		V (mL)			
Réactifs	EtOH	117	2	2,67	5,34
	ISOPRO	1	2	0,61	1,22
Instruments	IRTF	/			
Emissions		0			
Déchets		116,99		10,08	10,08
				Eco-scale	83,36

La brève discussion des procédures analytiques dans le contexte de la chimie verte présentée dans la section précédente montre qu'il existe des alternatives plus ou moins vertes pour chaque étape de la procédure (tableau 1.3 et 1.4). Ceci-dis, pour les deux méthodes étudiées, nous avons remarqué que les deux sont situées avec la même échelle dans la catégorie B mais avec un taux vert légèrement supérieur pour la méthode transmission-IRTF.

## 2.4 Conclusion

Nous avons pu conclure lors de cette étude que les modèles univariés ne peuvent pas fournir des résultats précis de la quantification simultanée des composés cibles et pour cette raison, nous avons fait appel aux méthodes de calibration multivariées. Des modèles (PLS-IRTF) ont été conçus pour obtenir une bonne corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs réelles des mélanges synthétiques des composés étudiés.

Par ailleurs, l'erreur relative de l'acide salicylique et de l'acide *p*-hydroxybenzoïque, tous deux présent dans chacune des matrices de calibrations PLS-IRTF d'acides phénoliques de même classe et d'acides phénoliques de différentes classes, montre que des résultats précis ont été obtenus en utilisant les meilleurs modèles optimisés de calibration multivariées PLS-IRTF construits aussi bien à partir de phénols de la même classe d'acides hydroxybenzoïques qu'à partir de phénols de différentes classes d'acides hydroxybenzoïques, hydroxycinnamiques ainsi que les phénols simple et mono-terpénique. Nous avons pu aboutir, dès lors, à une généralisation qui est que nous pouvons faire une quantification d'un composé phénolique quelconque quelques soit les matrices de calibration PLS-IRTF utilisées à condition que ces dernières contiennent l'étalon en question.

Cette étude a mis également en évidence la possibilité de faire une quantification directe simultanée rapide et précise des acides phénoliques présents dans les extraits de plantes de thym (*Thymus vulgaris*), d'origan (*Origanum vulgare*), de romarin (*Salvia Rosmarinus*), de cannelles (*Cinnamomum cassia*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), par la calibration multicomposée de la méthode de régression des moindres carrés partiels (PLS).

## CHAPITRE 3

# QUANTIFICATION DES ACIDES PHENOLIQUES SPECIFIQUES ET DEDUCTION DES ACIDES PHENOLIQUES TOTAUX CONTENUS DANS LES EXTRAITS DES PLANTES AROMATIQUES PAR PLS-IRTF-ATR

### 3.1 Introduction

Les composés phénoliques sont des composés omniprésents trouvés dans toutes les plantes en tant que métabolites secondaires, y compris les phénols simples et les acides phénoliques, les dérivés d'acide hydroxycinnamique, les dérivés d'acide hydroxybenzoïque et les flavonoïdes, les isoflavonoïdes, les coumarines, le stilbène, les lignanes, les lignines, les tanins condensés, les naphthoquinones [456-459].

Les phénols sont de plus en plus importants, notamment en raison de leurs effets bénéfiques sur la santé [460, 461]. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes comme les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, le pollen, les fruits, les graines et le bois et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogénèse, la germination des graines ou la maturation des fruits.

En effet, leur rôle d'antioxydants naturels [462] suscite un intérêt dans la prévention et le traitement des cancers [463-465], des maladies inflammatoires [466], cardiovasculaires [460, 467] et neurodégénératifs [468]. Ils sont également utilisés comme additifs pour les industries alimentaire, pharmaceutique et cosmétique [469, 470].

Les dérivés substitués des acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique sont les acides phénoliques prédominants dans les plantes, les acides hydroxycinnamiques étant les plus courants [471].

Selon la structure moléculaire, seuls les dérivés de l'acide benzoïque sont des acides phénoliques et les dérivés de l'acide cinnamique sont des phénylpropanoïdes. Les acides phénoliques se comportent comme des antioxydants, en raison de la réactivité de leur groupement phénol (substituant hydroxyle sur le cycle aromatique).

Bien qu'il existe plusieurs mécanismes, on pense que le mode prédominant d'activité antioxydante est le piégeage des radicaux par don d'atome d'hydrogène.

D'autres mécanismes d'antioxydants et d'extinction radicaux établis sont le don d'électrons et la trempe à l'oxygène singulet [472]. Les substituants sur le cycle aromatique affectent la stabilisation et par conséquent affectent la capacité d'extinction radicalaire de ces acides phénoliques. Différents acides ont donc des activités antioxydantes différentes [473].

Plusieurs méthodes spectrophotométriques pour la quantification des composés phénoliques dans des extraits de matériel végétal ont été développées. Ces études sont basées sur différents principes et sont utilisés pour déterminer divers groupements fonctionnelles présents dans les composés phénoliques.

Dans cette étude, nous avons proposé une quantification des acides phénoliques spécifique puis la déduction de la teneur en acides phénoliques totaux dans différents extraits de plantes aromatiques contenus dans dix-huit extraits de plantes aromatiques à savoir ; le thym (*Thymus vulgaris*. L.), l'origan (*Origanum vulgare*), le romarin (*Rosmarinus officinalis prostrates*), le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), la cannelle (*Cinnamomum cassia*), l'anis étoilé (*Illicium verum*), l'anis verte (*Pimpinella anisum*), la coriandre (*Coriandrum sativum*), le basilic (*Ocimum basilicum* L.), le cumin (*Cuminum cyminum*), l'écorce de grenade (*Punica granatum*), le marc de café (*Coffea arabica*), la marjolaine (*Origanum majorana*), les pépins de raisins (*Vitis vinifera* var. *sativa*), le piment rouge (*Capsicum annum*), le poivre noir (*Piper nigrum*), la sauge (*Salvia officinalis*) et le thé vert (*Camellia sinensis*), par PLS-ATR-IRTF.

Pour ce faire, nous avons commencé par trouver les modèles optimaux pour chaque phénol considéré, puis nous avons développé un modèle pour les acides phénoliques totaux. La détermination de ce dernier repose, d'une part, à introduire dans la matrice d'étalonnage une colonne d'acides phénoliques totaux où la concentration en acides phénoliques totaux est calculée comme étant la somme des concentrations d'acides phénoliques présentes dans les mélanges, et d'autre part, sur la sélection d'une zone spectrale commune à tous les acides phénoliques considérés dans cette étude, entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ , sans qu'elle soit exploitée pour la quantification spécifiques.

## 3.2 Partie expérimentale

### 3.2.1 Appareils et logiciels

Un spectromètre IRTF, modèle Nicolet iS10 FT-IR Spectrometer, a été utilisé pour les mesures de solutions liquide après évaporation en mode ATR. Equipé d'un détecteur de sulfate de triglycine deutéré (DTGS), 0,5 ul de chaque extrait d'échantillon a été séché sur le cristal de diamant ATR de l'accessoire Dura Sample IR II à mono-réflexion (Smiths Detection Inc. (MA USA)) pour liquides. Le logiciel OMNIC a été utilisé pour le contrôle des instruments et le traitement spectral des données. Un étalonnage multivarié a été effectué à l'aide de l'application TQ Analysis.

### 3.2.2 Réactifs

L'éthanol absolu de qualité analytique Multisolvant, de VWR International (Fontenay-sous-Bois, France), a été utilisé pour la préparation des solutions étalons ainsi que pour la préparation d'extraits de plantes. Les standards à savoir : l'acide salicylique, avec une pureté de 99%, l'acide *p*-hydroxybenzoïque, avec une pureté de 99%, l'acide vanillique, avec une pureté de 98%, l'acide gallique, avec une pureté de 99%, l'acide *trans*-cinnamique, avec une pureté de 99%, l'eugénol, avec une pureté de 98% ont été fournies par Sigma -Aldrich Chemie Gmbh (Munich, Allemagne).

### 3.2.3 Préparation des mélanges de la matrice de calibration

Pour construire les modèles PLS sélectionnés, une conception d'un plan expérimentale de  $6^2$  couvrant différents mélanges des six composés considérés appartenant à différentes classes (acides hydroxybenzoïques et hydroxycinnamiques et phénols monoterpéniques) à deux niveaux de concentration maximal et minimal a été utilisée. Les tableaux 3.1.1, 3.1.2 et 3.1.3 montre la composition des 36 mélanges préparés.

L'acide *trans*-cinnamique a été préparé à une concentration de 0,15 et 1,5 mg mL<sup>-1</sup>, l'acide salicylique à 0,2 et 2 mg mL<sup>-1</sup>, l'acide vanillique à 0,25 et 2,5 mg mL<sup>-1</sup>, l'acide gallique à 0,3 et 3 mg mL<sup>-1</sup>, l'acide *p*-hydroxybenzoïque à 0,4 et 4 mg mL<sup>-1</sup> et l'eugénol à 0,5 et 5 mg mL<sup>-1</sup> en utilisant de l'éthanol (EtOH) pur pour les mesures en mode ATR.

La concentration des phénols totaux dans un mélange a été déduite en calculant la somme des concentrations des phénols présents dans ce mélange.

Tableau 3.1.1 : Composition des mélanges M01-M12 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant au modèle PLS de  $\delta^2$ .

Étalon	Acide <i>Trans</i> -cinnamique		Acide salicylique		Acide vanillique		Acide gallique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Eugénol	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M01	1.50	0.60	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	5.00	2.00
M02	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	0.50	0.20
M03	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	0.50	0.20
M04	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	1.00	0.30	0.12	0.40	0.16	0.50	0.20
M05	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	1.00	0.40	1.20	0.40	0.16	0.50	0.20
M06	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	0.50	0.20
M07	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	0.50	0.20
M08	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	5.00	2.00
M09	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	4.00	1.60	5.00	2.00
M10	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	3.00	1.20	4.00	1.60	5.00	2.00
M11	0.15	0.06	0.20	0.08	2.50	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	5.00	2.00
M12	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	5.00	2.00

Tableau 3.1.2 : Composition des mélanges M13-M24 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant au modèle PLS de  $\sigma^2$ .

Étalon	Acide <i>Trans</i> -cinnamique		Acide salicylique		Acide vanillique		Acide gallique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Eugénol	
	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)	$C_F$ (mg mL <sup>-1</sup> )	$V_M$ (ml)
M13	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M14	0.15	0.06	0.20	0.08	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M15	1.50	0.60	2.00	0.80	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M16	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M17	1.50	0.60	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M18	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M19	1.50	0.60	0.20	0.08	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M20	0.15	0.06	2.00	0.80	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M21	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M22	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M23	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M24	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00

Tableau 3.1.3 : Composition des mélanges M25-M36 des composés appartenant à différentes classes constituant la matrice de calibration correspondant au modèle PLS de 6<sup>2</sup>.

Étalon	Acide <i>Trans</i> -cinnamique		Acide salicylique		Acide vanillique		Acide gallique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Eugénoï	
	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)
M 25	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	5.00	2.00
M 26	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	0.50	0.20
M 27	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	0.50	0.20
M 28	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	5.00	2.00
M 29	1.50	0.60	2.00	0.80	2.50	1.00	0.30	0.12	4.00	1.60	5.00	2.00
M 30	0.15	0.06	0.20	0.08	0.25	0.10	3.00	1.20	0.40	0.16	0.50	0.20
M 31	1.50	0.60	0.20	0.08	0.25	0.10	0.30	0.12	4.00	1.60	5.00	2.00
M 32	0.15	0.06	2.00	0.80	2.50	1.00	3.00	1.20	0.40	0.16	0.50	0.20
M 33	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	0.10	0.30	0.12	4.00	1.60	5.00	2.00
M 34	0.15	0.06	0.20	0.08	2.50	1.00	3.00	1.20	0.40	0.16	0.50	0.20
M 35	1.50	0.60	2.00	0.80	0.25	0.10	0.30	0.12	0.40	0.16	5.00	2.00
M 36	0.15	0.06	0.20	0.08	2.50	1.00	3.00	1.20	4.00	1.60	0.50	0.20

### 3.2.4 Préparation de la matrice de validation des méthodes PLS-ATR-IRTF

Afin de vérifier la fiabilité de la méthode ou des modèles mathématiques construits à partir de différentes PLS effectuées en mode ATR-IRTF, nous avons analysé des mélanges synthétiques d'acides phénoliques dans l'éthanol pur de concentrations connues comme le montre le tableau 3.2.

Les spectres de ces mélanges d'acides phénoliques dans l'éthanol pur ont été exploités pour la préparation de la matrice de validation des modèles PLS-ATR-IRTF.

Tableau 3.2 : Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation).

Étalon	Acide <i>Trans</i> -cinnamique		Acide salicylique		Acide vanillique		Acide gallique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Eugénol	
	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)
MS	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M01	/	/	1.50	0.75	/	/	/	/	/	/	/	/
M02	1.00	0.50	1.50	0.75	/	/	2.50	1.25	/	/	4.00	2.00
M03	1.00	0.50	0.50	0.25	/	/	2.50	1.25	/	/	4.00	2.00
M04	/	/	1.50	0.75	2.00	1.00	/	/	3.00	1.50	/	/
M05	/	/	0.50	0.25	2.00	1.00	/	/	3.00	1.50	/	/
M06	1.00	0.50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
M07	1.00	0.50	/	/	/	/	2.50	1.25	/	/	4.00	2.00
M08	0.50	0.25	/	/	/	/	2.50	1.25	/	/	4.00	2.00
M09	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	4.00	2.00

### 3.2.5 Extraits végétaux

Le matériel végétal collecté a été séché à l'air dans l'obscurité à température ambiante (20°C), les plantes séchées ont été coupées, broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre et stockées dans des récipients ambré et scellé jusqu'à utilisation. Les extraits éthanoliques de thym (*Thymus vulgaris*. L.), origan (*Origanum vulgare*), romarin (*Rosmarinus officinalis prostrates*), clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), cannelle de chine (*Cinnamomum cassia*), anis étoilé (*Illicium verum*), anis (*Pimpinella anisum*), coriandre (*Coriandrum sativum*), basilic (*Ocimum basilicum* L.), cumin (*Cuminum cyminum*), écorce de grenade (*Punica granatum*), marc de café (*Coffea arabica*), marjolaine (*Origanum majorana*), pépins de raisin (*Vitis vinifera* var. *sativa*), piment rouge (*Capsicum annuum*), poivre noir (*Piper nigrum*), sauge (*Salvia officinalis*) et du thé vert (*Camellia sinensis*), ont été préparés en faisant macérer 1,5 g de poudre de plantes préalablement séchées et broyées dans 5 ml d'éthanol pendant 72 heures et en conservant l'extrait jusqu'à analyse par ATR-IRTF.

### 3.2.6 Analyse des solutions ATR-IRTF

Un microlitre d'étalons et d'échantillons ont été placés sur la surface cristalline de l'ATR. L'éthanol a été laissé jusqu'à évaporation à l'aide d'un flux d'air. Après évaporation du solvant, les spectres ont été enregistrés entre 4000 et 550  $\text{cm}^{-1}$ , avec une résolution de 8  $\text{cm}^{-1}$  et une moyenne de 20 balayages, trois spectres indépendants étant obtenu pour chaque solution étalon.

Le background a été établi avec l'éthanol en procédant de la même manière et dans les mêmes conditions expérimentales que les échantillons.

Après avoir mesuré chaque essai d'échantillon, le cristal en diamant de l'ATR a été nettoyé avec de l'éthanol et un papier de cellulose doux, en vérifiant que la ligne de base a été récupérée après le nettoyage et avant l'introduction d'un autre échantillon.

### 3.2.7 Traitement des données

L'analyse PLS multivariée a été réalisée en utilisant des mélanges des six composés considérés. Différentes gammes spectrales ont été essayée en utilisant différents traitements de données spectrales comme la correction d'Offset, soustraction en ligne

droite, dérivée de premier et de deuxième ordre, et dérivée première plus soustraction d'une droite.

Les coefficients de corrélation pour l'étalonnage ( $R^2_{\text{Cal}}$ ), la validation croisée ( $R^2_{\text{CV}}$ ) et la prédiction ( $R^2_{\text{pred}}$ ) et les erreurs quadratiques moyennes d'étalonnage (RMSEC), de la validation croisée (RMSECV) et de la prédiction (RMSEP) ont été utilisés pour évaluer les performances des modèles PLS.

### 3.3 Résultats et discussions

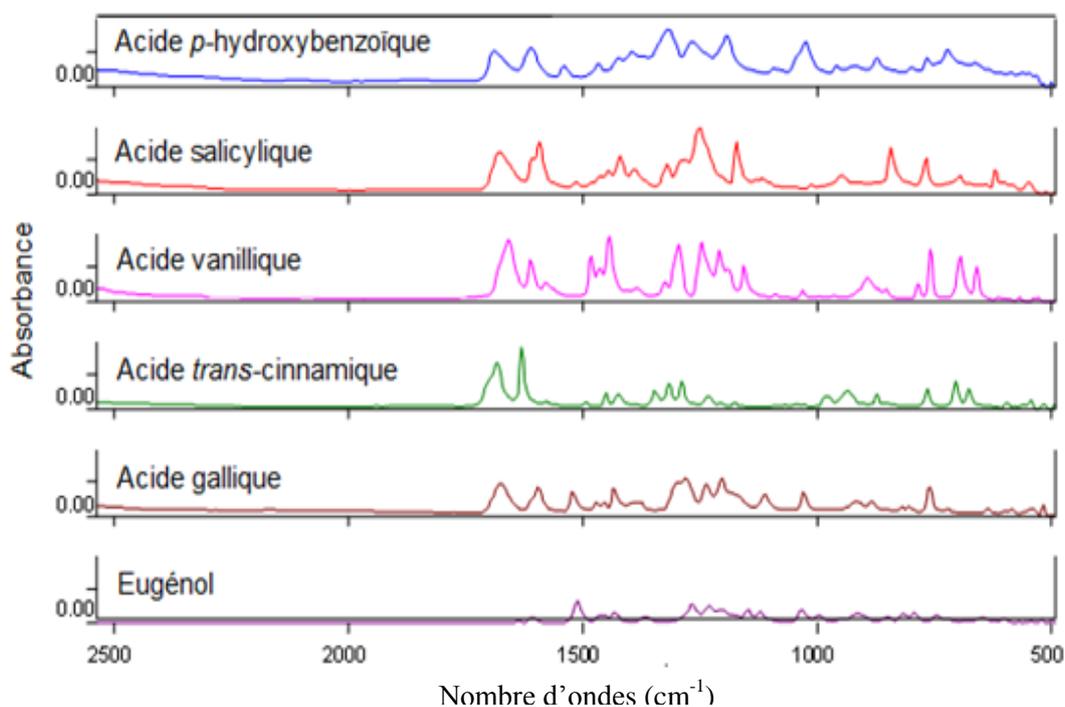
#### 3.3.1 Spectres IRTF des composés phénoliques

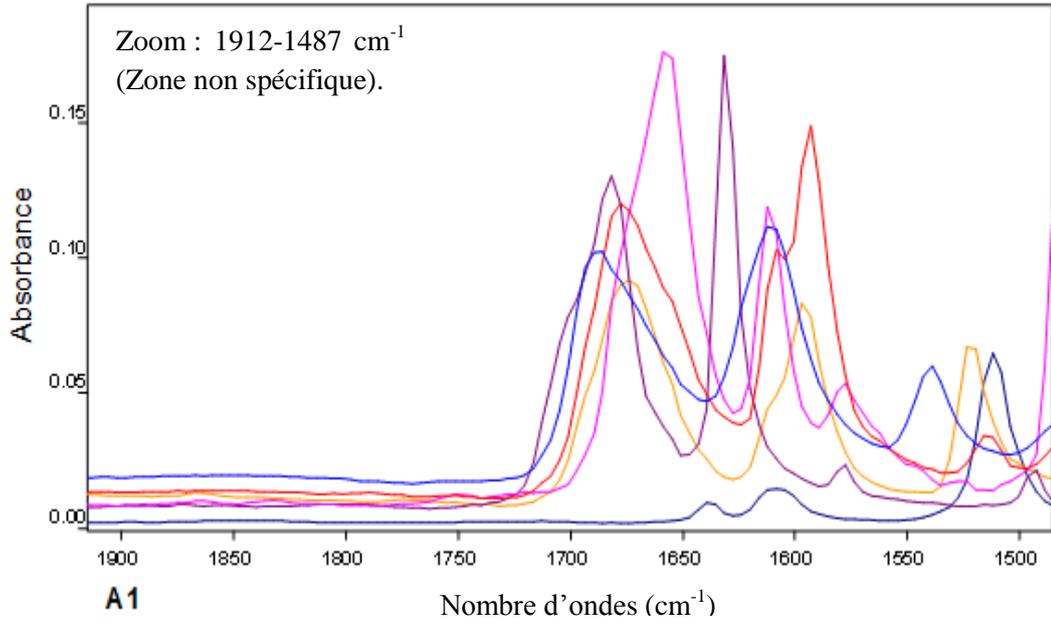
La figure 3.1 montre les spectres de film sec ATR des six composés considérés dans cette étude. Il est à noter qu'il n'y a pas de signaux saturés dus au solvant. Les six acides phénoliques présentent en commun les pics suivants: les bandes intenses à  $1679\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à l'élongation de la liaison C=O et deux autres bandes moyennes à  $1242$  et  $1177\text{ cm}^{-1}$  qui représentent l'élongation des liaisons COC, une bande à  $1611\text{ cm}^{-1}$  indiquant une élongation du groupe C=C d'un alcène, deux bandes intenses à  $1607$  et  $1542\text{ cm}^{-1}$  indiquant l'élongation du groupe aromatique (C=C), des pics allant de  $1183$  à  $1255\text{ cm}^{-1}$  et à  $1255\text{ cm}^{-1}$  (intense) concernant l'élongation de la liaison CO des six acides. La gamme de  $1362$  à  $1486\text{ cm}^{-1}$  fournit des bandes caractéristiques à la déformation du groupe CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> et des anneaux [452, 453], les pics à  $1114\text{ cm}^{-1}$  et  $915\text{ cm}^{-1}$  indiquent l'élongation de la liaison CO de l'éther spécifique de l'acide vanillique [454], et les pics à  $890$  à  $822\text{ cm}^{-1}$  concernent respectivement les cycles aromatiques tri- et para-substitués. Des pics à  $560\text{ cm}^{-1}$  et à  $654\text{ cm}^{-1}$  indiquent des bandes caractéristiques de l'acide gallique correspondant à une déformation hors du plan de la liaison  $\gamma\text{C-O}$ . L'eugénol a montré ses pics de signature dans la région de  $720$  à  $1250\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à la région C=C. De plus, des pics nets à  $1640$ ,  $1610$  et  $1510\text{ cm}^{-1}$  ont également été trouvés pour l'eugénol, ce qui peut être dû à l'étirement C=C de la fraction aromatique. Pour l'acide *trans*-cinnamique, des vibrations d'étirement asymétrique et symétrique des modes carbonyle se révèlent être une bande IR très forte et caractéristique à  $1684\text{ cm}^{-1}$ . Les acides salicylique et *p*-hydroxybenzoïque présentent des bandes caractéristiques intenses à  $1735\text{ cm}^{-1}$ , qui correspondent à l'élongation de la liaison C=O.

La figure 3.1 (A1-A3) indique que les zones spectrales d'absorbance communes à tous les phénols, considérés dans cette étude, peuvent être sélectionnées entre  $1912$  et  $1487\text{ cm}^{-1}$ ,  $1737$  et  $1642\text{ cm}^{-1}$  ou entre  $1737$  et  $1624\text{ cm}^{-1}$ . La sélection de la zone étroite

comprise entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$  a été choisie comme étant la région représentative pour la quantification des acides phénoliques totaux présents dans les mélanges par PLS-IRTF-ATR.

- ❖ Concernant la zone spectrale située entre 1912 et 1487  $\text{cm}^{-1}$  : bien que nous ayons obtenue de bons résultats de prime abord, étant donné que la gamme fut trop élargie, nous avons préféré réduire la gamme d'optimisation au maximum afin d'obtenir une meilleure exploitation des résultats pour la quantification des acides phénolique totaux.
- ❖ Pour la zone spectrale située entre 1737 et 1642  $\text{cm}^{-1}$  : même si elle a donné des résultats acceptables pour la gamme, sauf qu'elle ne représentait qu'une petite partie du pic de l'eugénol comme le montre la figure 3.1. A2 dans le zoom spectral d'où la décision de sélectionner le modèle d'acides phénoliques totaux entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$  qui prend tous les pics de tous les standards.





**Acide gallique 25  $\text{mg mL}^{-1}$**

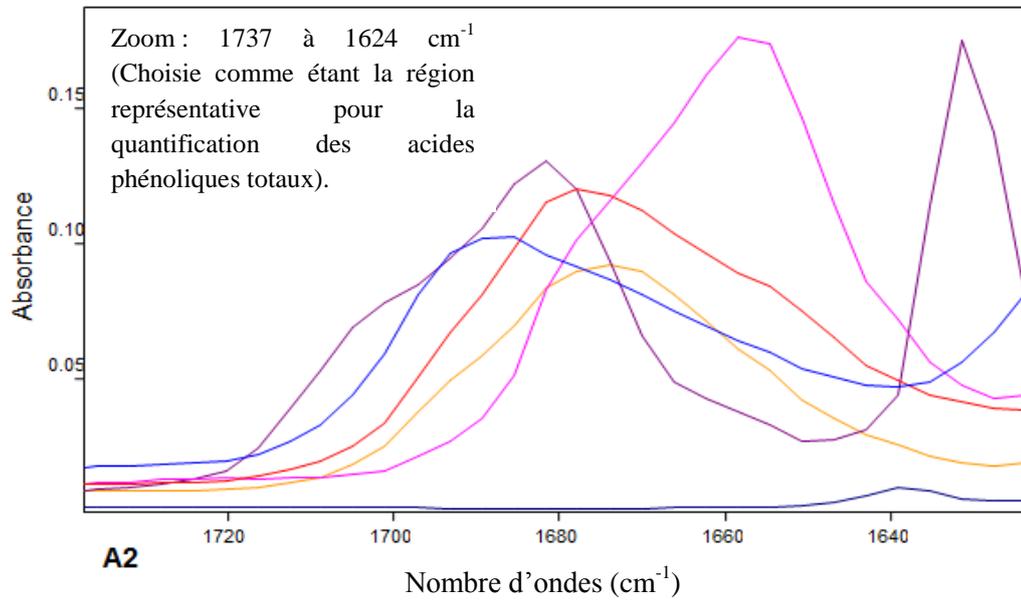
**Acide *p*-hydroxybenzoïque 25  $\text{mg mL}^{-1}$**

**Acide salicylique 25  $\text{mg mL}^{-1}$**

**Acide *trans*-cinnamique 25  $\text{mg mL}^{-1}$**

**Acide vanillique 25  $\text{mg mL}^{-1}$**

**Eugénol 25  $\text{mg mL}^{-1}$**



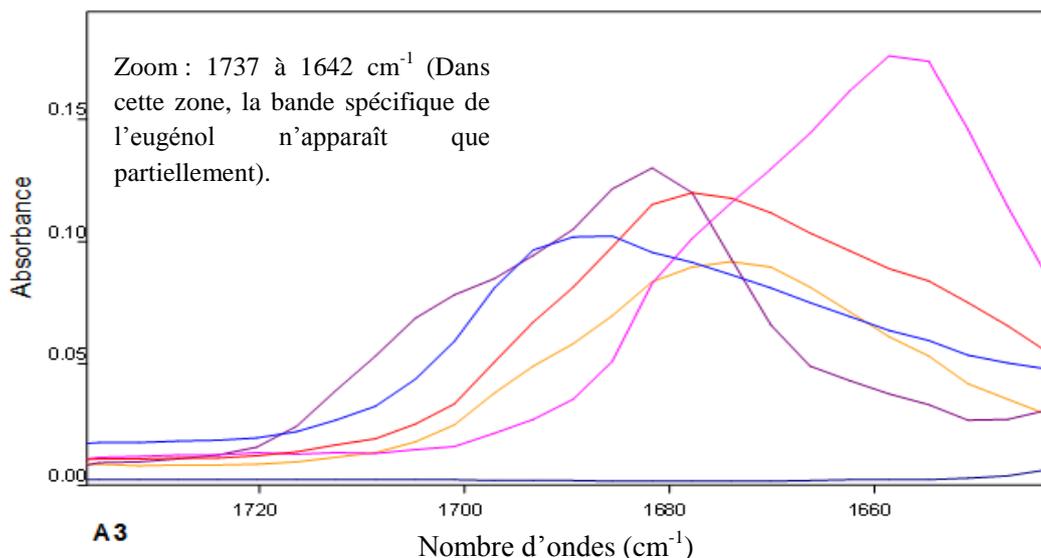


Figure 3.1 : A1. Spectres ATR-IRTF des solutions étalons individuelles contenant  $25 \text{ mg mL}^{-1}$  d'acide *p*-hydroxybenzoïque, d'acide salicylique, d'acide vanillique, d'acide *trans*-cinnamique, d'acide gallique et d'eugénol dans l'éthanol pur. Les spectres ont été obtenus en accumulant 20 balayages avec une résolution spectrale de  $8 \text{ cm}^{-1}$  à partir de  $0,5 \text{ }\mu\text{L}$  de solution. (A1-A4). Zoom de la gamme spectrale de tous les standards de  $1912\text{-}1487 \text{ cm}^{-1}$  (A1),  $1737 \text{ à } 1624 \text{ cm}^{-1}$  (A2) et  $1737\text{-}1642 \text{ cm}^{-1}$  (A3).

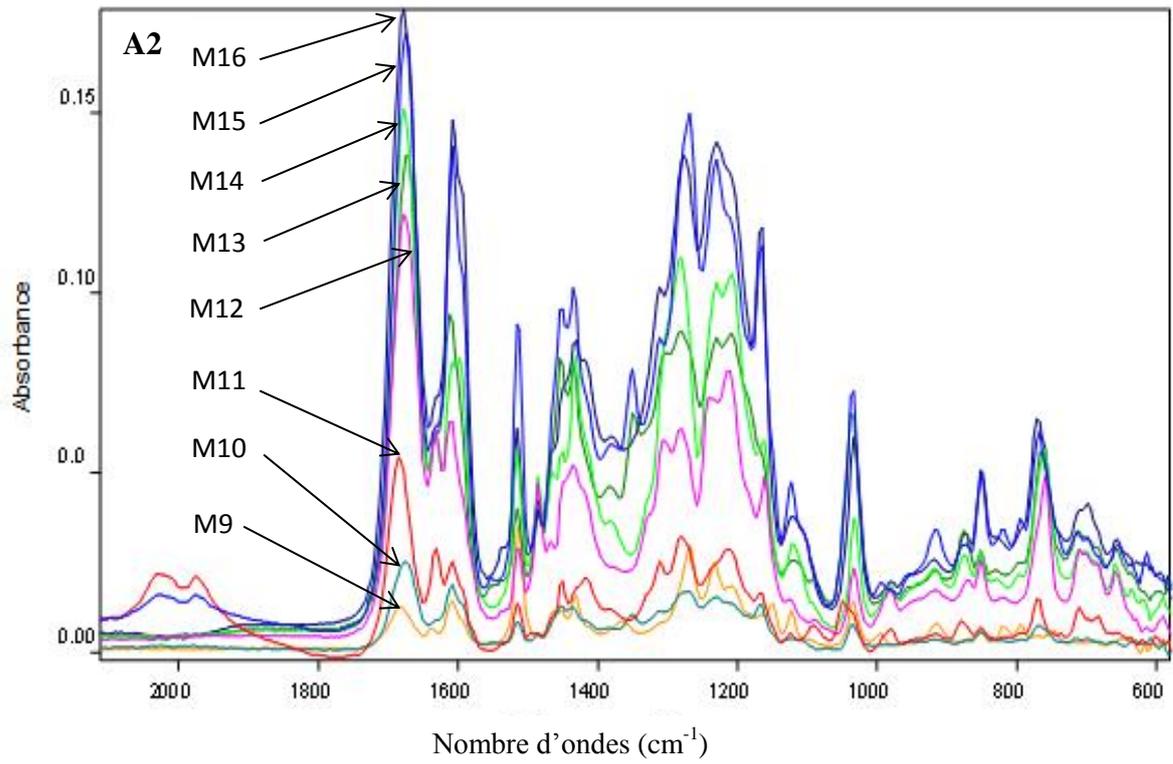
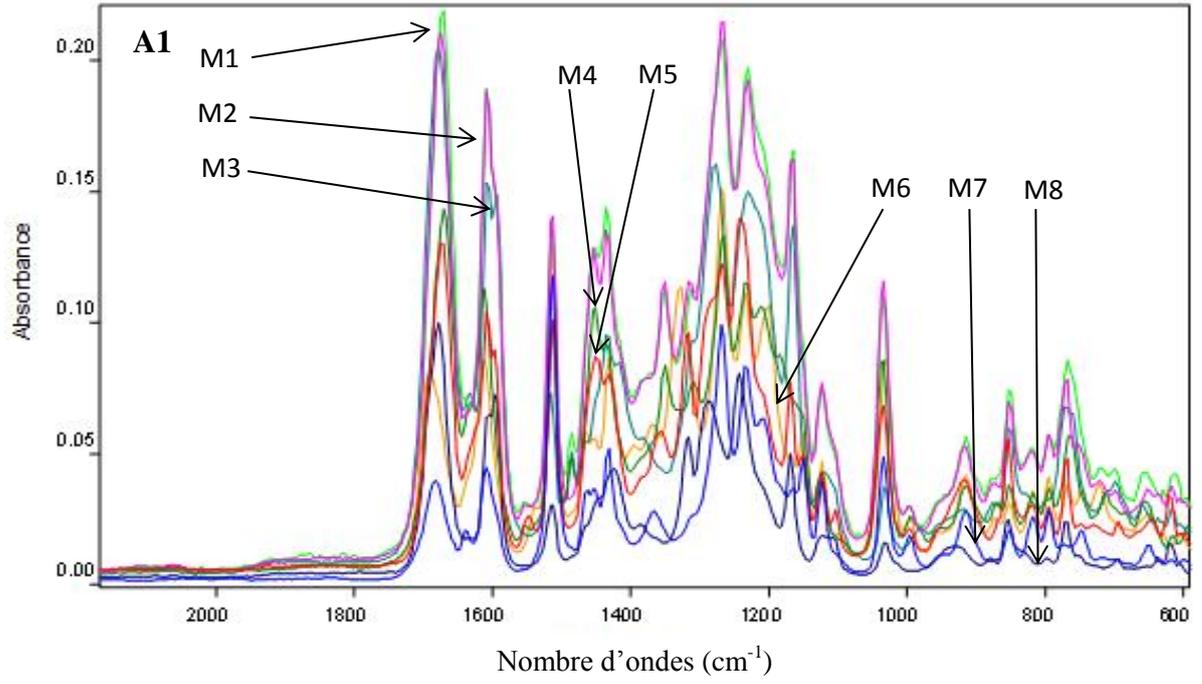
### 3.3.2 Étalonage PLS des mélanges d'acides phénoliques des six standards

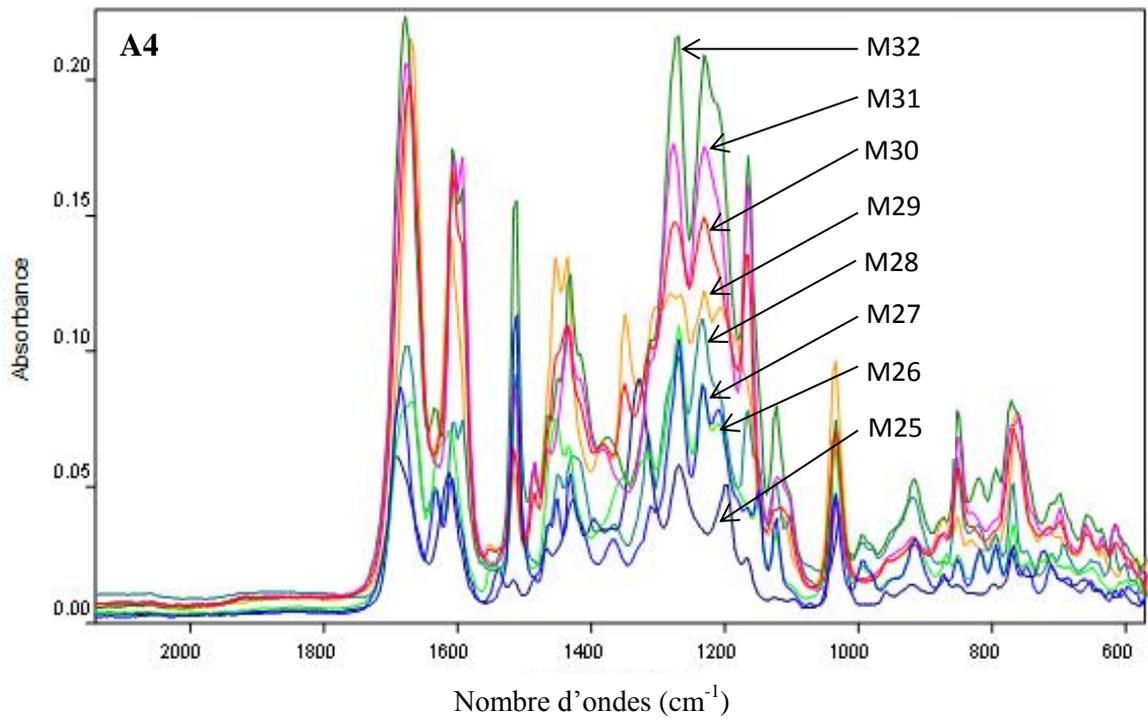
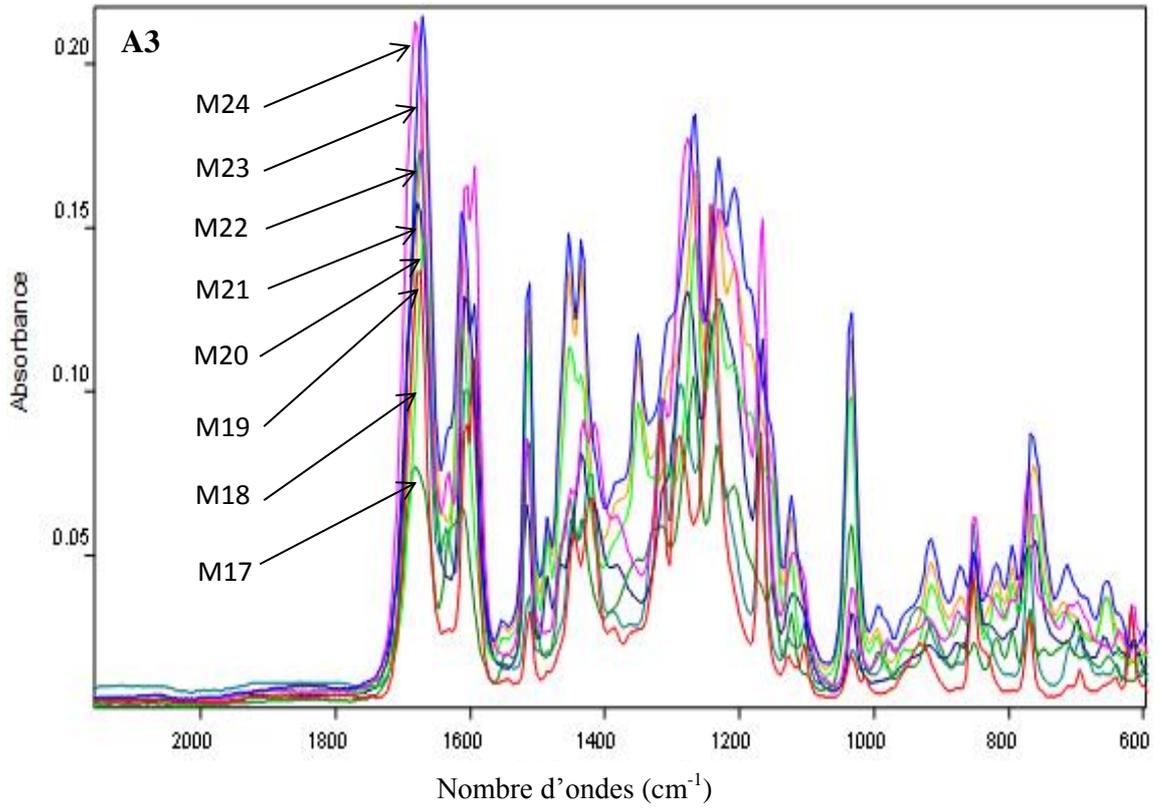
Un ensemble réduit de  $6^2$  comme plan expérimental, correspondant aux six composés considérés à deux niveaux de concentration, a été conçu comme indiqué dans la partie expérimentale.

Les régions spectrales à  $1566\text{-}1485$  et  $1219\text{-}563 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1219\text{-}984 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1566\text{-}1485$  et  $991\text{-}563 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1566\text{-}1485 \text{ cm}^{-1}$ ,  $991\text{-}563 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1219\text{-}563 \text{ cm}^{-1}$ , ont été testés pour l'étalonage ATR-IRTF.

La figure 3.2 représente les trente-six mélanges de la calibration mentionnée précédemment dans la partie matériels et méthodes. De plus, neuf mélanges synthétiques considérés comme « Test set » de la PLS ont été analysés afin de valider et de sélectionner les meilleurs modèles de la calibration.

La région bruyante a été observée entre  $2250$  et  $1900 \text{ cm}^{-1}$  en raison de l'absorbance élevée de la surface en diamant de l'accessoire ATR.





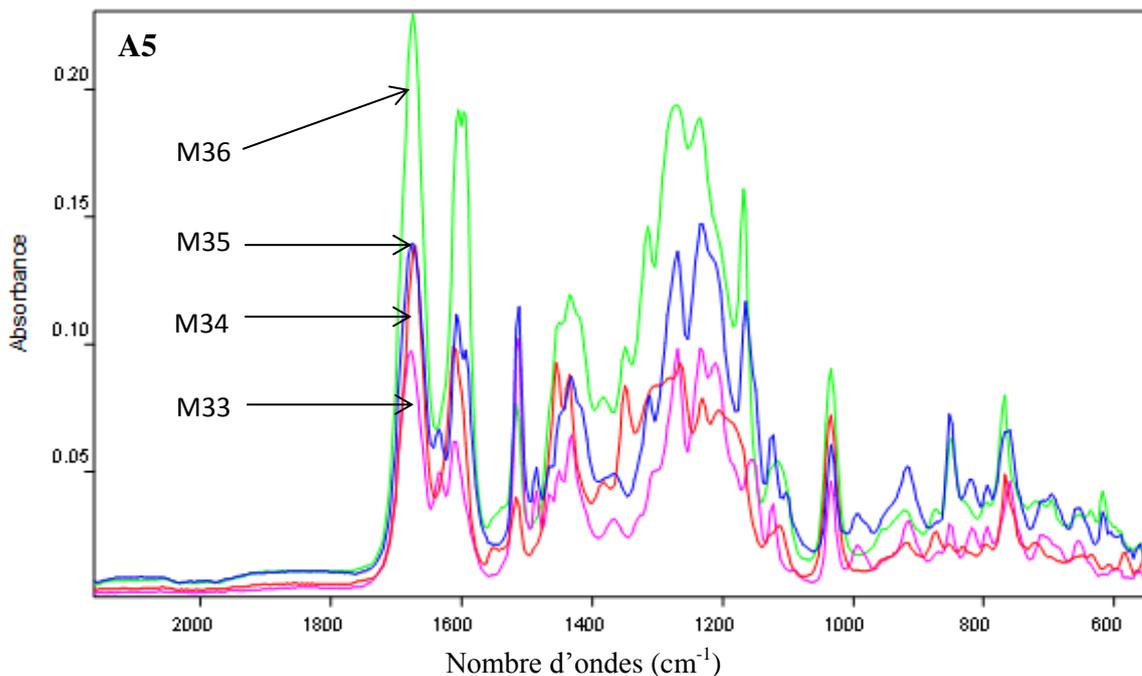


Figure 3.2 : Spectres ATR-IRTF de trente-six mélanges de calibration ( $M_1$ - $M_{36}$ ) (A1-A5) composé d'acide *p*-hydroxybenzoïque, de l'acide salicylique, de l'acide vanillique, de l'acide *trans*-cinnamique, de l'acide gallique et d'eugénol. Les spectres ont été obtenus en accumulant 20 balayages avec une résolution spectrale de  $8\text{ cm}^{-1}$  à partir de  $0,5\ \mu\text{l}$  de solution séchée dans l'éthanol pur.

Dans cette étude nous avons optimisé tous les paramètres et en considérant les différents prétraitements de données comme correction d'Offset, soustraction d'une ligne droite, dérivée première et dérivée seconde.

Les résultats sont résumés dans les tableaux de 3.3 à 3.8 pour les six étalons spécifiques.

Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie des solutions de calibrage, les erreurs calculées de la prédiction  $RMSEP$ , de la calibration  $RMSEE$ , de la validation  $RMSECV$  ainsi que le  $R^2$  pour chaque paramètre. Le paramètre principal, l'erreur quadratique moyenne de prédiction ( $RMSEP$ ), fut suivi pour établir et choisir les modèles, dans notre étude. Les modèles sélectionnés sont indiqués en rouge dans les tableaux ci-dessous pour chaque composé.

A) Acide *para*-hydroxybenzoïqueTableau 3.3 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide *para*-hydroxybenzoïque par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0422	77.95	1.1040	76.67	1.0476	51.72	
		5	1.0309	77.97	1.0792	76.81	1.0423	51.78	
		6	1.0285	77.98	1.0421	76.95	1.0580	51.58	
	<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>		<b>3</b>	<b>0.8000</b>	<b>81.08</b>	<b>0.8170</b>	<b>79.89</b>	<b>0.6510</b>	<b>72.78</b>
			4	1.0429	77.95	1.1050	76.66	1.0578	51.58
			5	1.0151	77.99	1.0680	76.86	1.0570	51.59
	<b>1219-984</b>		<b>3</b>	<b>0.7380</b>	<b>83.90</b>	<b>0.7490</b>	<b>82.38</b>	<b>0.8280</b>	<b>55.91</b>
			4	1.0291	77.98	1.0835	76.78	1.0439	51.79
			5	1.0252	77.98	1.0395	76.95	1.0595	51.55
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0419	77.97	1.1050	76.66	1.0576	51.58
			5	1.0238	77.98	1.0523	76.92	1.0411	51.79
			6	1.0217	77.99	1.0320	76.97	1.0343	51.85
<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>			<b>3</b>	<b>0.7740</b>	<b>82.30</b>	<b>0.7930</b>	<b>80.97</b>	<b>0.7070</b>	<b>67.84</b>
			4	1.0309	77.97	1.0939	76.73	1.0322	51.87
			5	1.0275	77.98	1.0436	76.94	1.0501	51.68
<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>			5	1.0360	77.96	1.0984	76.70	1.0431	51.77
			6	1.0221	77.99	1.0794	76.81	1.0320	51.87
			<b>7</b>	<b>0.6600</b>	<b>87.69</b>	<b>0.6760</b>	<b>86.07</b>	<b>0.7990</b>	<b>58.97</b>
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0328	77.97	1.0663	76.86	1.0942	51.88	
		5	1.0232	77.98	1.0539	76.91	1.0796	51.20	
		6	1.0181	77.99	1.0285	76.97	1.0365	51.83	
	1766-1354 892-845		4	1.0459	77.94	1.0849	76.78	1.1260	51.99
			5	1.0316	77.97	1.0714	76.84	1.1040	51.64
			6	1.0247	77.98	1.0396	76.95	1.0396	51.80
	1766-1354 1175-1139		4	1.0351	77.96	1.0668	76.86	1.0959	51.84
			5	1.0245	77.98	1.0550	76.91	1.0806	51.18
			6	1.0194	77.99	1.0306	76.97	1.0364	51.83
Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0214	77.77	1.0319	76.97	1.0418	51.78	
		5	1.0112	77.81	1.0228	76.98	1.0439	51.76	
		6	1.0110	77.82	1.0253	76.98	1.0430	51.77	
	1766-1354 892-845		4	1.0369	77.75	1.0543	76.91	1.0511	51.67
			5	1.0139	77.81	1.0356	76.96	1.0433	51.76
			6	1.0130	77.81	1.0278	76.98	1.0397	51.80

	1766-1354	4	1.0236	77.77	1.0347	76.96	1.0427	51.77	
	1175-1139	5	1.0114	77.81	1.0220	76.99	1.0441	51.76	
		6	1.0108	77.82	1.0266	76.98	1.0435	51.76	
Dérivée seconde	1766-1354	4	1.0141	77.81	1.0180	76.99	1.0535	51.64	
	1175-1139	5	1.0120	77.80	1.0244	76.98	1.0491	51.70	
	892-845	6	1.0112	77.80	1.0297	76.97	1.0470	51.72	
	1766-1354	4	1.0184	77.80	1.0227	76.98	1.0581	51.58	
	892-845	5	1.0131	77.80	1.0281	76.98	1.0495	51.69	
		6	1.0114	77.80	1.0316	76.97	1.0468	51.73	
	1766-1354	4	1.0130	77.80	1.0172	76.99	1.0512	51.67	
	1175-1139	5	1.0118	77.81	1.0237	76.98	1.0485	51.70	
		6	1.0113	77.81	1.0298	76.97	1.0469	51.72	
	Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	1.0269	77.77	1.0396	76.95	1.0403	51.80
		1175-1139	5	1.0122	77.81	1.0259	76.98	1.0426	51.77
		892-845	6	1.0119	77.81	1.0283	76.98	1.0430	51.77
1766-1354		4	1.0388	77.74	1.0572	76.90	1.0442	51.75	
892-845		5	1.0138	77.80	1.0347	76.96	1.0411	51.79	
		6	1.0132	77.80	1.0287	76.97	1.0416	51.78	
1766-1354		4	1.0292	77.77	1.0427	76.94	1.0456	51.74	
1175-1139		5	1.0131	77.80	1.0261	76.98	1.0444	51.75	
		6	1.0115	77.81	1.0285	76.97	1.0420	51.78	

*B) Acide gallique*

Tableau 3.4 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide gallique par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$
Pas de prétraitement	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	<b>4</b>	<b>0.4140</b>	<b>91.10</b>	<b>0.4510</b>	<b>89.88</b>	<b>0.2530</b>	<b>95.85</b>
		5	0.4589	90.82	0.5460	87.83	0.3915	90.19
		6	0.4541	90.85	0.5520	87.73	0.3641	90.60
	<b>1219-984</b>	<b>4</b>	<b>0.3750</b>	<b>92.67</b>	<b>0.3810</b>	<b>91.44</b>	<b>0.2660</b>	<b>96.68</b>
		<b>5</b>	<b>0.3580</b>	<b>93.40</b>	<b>0.3650</b>	<b>92.09</b>	<b>0.2770</b>	<b>95.03</b>
		6	0.4739	89.73	0.5030	88.73	0.3909	90.20
	1766-1354 1175-1139	4	0.4917	89.57	0.5500	87.77	0.4490	88.86
		5	0.4579	90.83	0.5390	87.95	0.3912	90.20
		6	0.4539	90.85	0.5560	87.67	0.3738	90.48
Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4981	89.51	0.5490	87.78	0.4400	88.11
		5	0.4461	90.89	0.5270	88.12	0.4090	89.85
		6	0.4441	90.90	0.4962	88.49	0.3753	90.45
	1766-1354 892-845	4	0.4981	89.51	0.5490	87.78	0.4370	88.19
		5	0.4711	89.74	0.5260	88.12	0.4120	89.79
		6	0.4662	89.78	0.5600	86.59	0.4070	89.90
	1766-1354 1175-1139	4	0.4912	89.57	0.5410	87.91	0.4460	88.95
		5	0.4489	90.88	0.5190	88.22	0.4070	89.90
		6	0.4468	90.89	0.5200	88.21	0.3784	90.41
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4701	89.75	0.4941	88.51	0.4350	88.23
		5	0.4600	89.82	0.4968	88.49	0.3910	90.20
		6	0.4518	90.87	0.5170	88.25	0.4280	89.42
	1766-1354 892-845	4	0.4855	89.62	0.5120	88.32	0.4730	87.12
		5	0.4723	89.73	0.5160	88.26	0.4220	88.56
		6	0.4628	89.80	0.5420	87.89	0.4340	88.27
	1766-1354 1175-1139	4	0.4749	89.71	0.5010	88.44	0.4460	88.95
		5	0.4643	89.79	0.5030	88.41	0.3968	89.10
		6	0.4558	89.84	0.5270	88.12	0.4330	88.29

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4387	89.92	0.4478	88.87	0.3828	89.34
		5	0.4279	89.96	0.4481	88.87	0.3866	89.28
		6	0.4253	89.97	0.4648	88.77	0.4130	88.77
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	4	0.4543	88.85	0.4669	87.75	0.4020	89.00
		5	<b>0.3300</b>	<b>94.40</b>	<b>0.3900</b>	<b>92.76</b>	<b>0.2590</b>	<b>95.66</b>
		6	0.4302	89.95	0.4754	88.69	0.4300	88.37
	1766-1354 1175-1139	4	0.4424	88.91	0.4539	87.84	0.4130	88.78
		5	0.4308	89.95	0.4598	88.80	0.4070	88.89
		6	0.4250	89.97	0.4696	88.73	0.4270	88.44
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.5150	85.32	0.5450	84.85	0.4600	86.52
		5	0.4277	89.96	0.4585	88.81	0.3980	89.08
		6	0.4233	89.97	0.4552	88.83	0.4050	89.94
	1766-1354 892-845	4	0.5210	85.25	0.5520	84.73	0.4690	86.25
		5	0.4299	89.95	0.4512	88.86	0.4050	89.94
		6	0.4262	89.97	0.4577	88.82	0.4220	88.57
	1766-1354 1175-1139	4	0.5310	85.12	0.5660	84.49	0.4710	86.18
		5	0.4307	89.95	0.4551	88.83	0.4090	88.85
		6	0.4248	89.97	0.4667	88.76	0.4100	88.83
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4433	88.90	0.4539	87.84	0.3975	89.08
		5	0.4303	89.95	0.4675	88.75	0.3949	89.13
		6	0.4261	89.97	0.4583	88.81	0.4240	88.52
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	4	0.4546	88.85	0.4677	87.75	0.4110	88.81
		5	0.4342	89.94	0.4604	88.80	0.4030	89.97
		6	<b>0.3360</b>	<b>94.27</b>	<b>0.3410</b>	<b>94.51</b>	<b>0.3790</b>	<b>90.68</b>
	1766-1354 1175-1139	4	0.4499	88.87	0.4639	87.78	0.4330	88.29
		5	0.4344	89.94	0.4546	88.84	0.4200	88.62
		6	0.4238	89.97	0.4756	88.69	0.4200	88.61

*C) Acide salicylique*

Tableau 3.5 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide salicylique par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3245	89.93	0.3474	88.72	0.6370	28.19	
		5	0.3141	89.98	0.3380	88.82	0.6297	29.48	
		6	0.3127	89.98	0.3284	88.90	0.6359	28.24	
	<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>	4	<b>0.2330</b>	<b>93.65</b>	<b>0.2410</b>	<b>92.97</b>	<b>0.5470</b>	<b>30.81</b>	
		5	0.3150	89.97	0.3400	88.80	0.6338	28.33	
		6	0.3146	89.98	0.3376	88.83	0.6337	28.33	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3228	89.94	0.3430	88.77	0.6418	27.98	
		5	0.3131	89.98	0.3361	88.84	0.6341	28.32	
		6	0.3128	89.98	0.3376	88.89	0.6357	28.25	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3257	89.92	0.3484	88.71	0.6327	28.37
			5	0.3152	89.97	0.3355	88.84	0.6290	29.51
			6	0.3123	89.98	0.3224	88.94	0.6386	28.13
1766-1354 892-845		4	0.3245	89.93	0.3435	88.77	0.6439	27.87	
		5	0.3145	89.98	0.3367	88.83	0.6364	28.22	
		6	0.3136	89.98	0.3286	88.90	0.6386	28.13	
1766-1354 1175-1139		4	0.3230	89.94	0.3424	88.78	0.6369	28.20	
		5	0.3143	89.98	0.3342	88.86	0.6317	28.41	
		6	0.3125	89.98	0.3218	88.94	0.6376	28.17	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.3349	88.86	0.3611	87.54	0.7220	25.21
			5	0.3148	89.98	0.3561	88.61	0.6374	28.18
			6	0.3144	89.98	0.3329	88.87	0.6380	28.15
	1766-1354 892-845	4	0.3371	88.84	0.3637	87.50	0.7330	25.69	
		5	0.3162	89.97	0.3601	88.55	0.6393	28.10	
		6	0.3157	89.97	0.3369	88.83	0.6409	27.02	
	1766-1354 1175-1139	4	0.3344	88.86	0.3611	87.54	0.7200	25.74	
		5	0.3150	89.97	0.3563	88.61	0.6377	28.17	
		6	0.3146	89.98	0.3338	88.86	0.6386	28.18	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.4314	79.89	0.4433	78.77	0.6799	26.26
	1175-1139	5	0.4164	79.97	0.4376	78.83	0.6519	28.42
	892-845	6	0.4147	79.98	0.4406	78.80	0.6470	28.70
	<b>1566-1485</b>	<b>3</b>	<b>0.3740</b>	<b>83.46</b>	<b>0.3980</b>	<b>82.34</b>	<b>0.5330</b>	<b>34.32</b>
		4	0.4180	79.96	0.4434	78.77	0.6515	28.45
		5	0.4168	79.97	0.4449	78.75	0.6566	28.12
	1766-1354 1175-1139	4	0.4296	79.90	0.4403	78.80	0.6684	27.26
		5	0.4171	79.97	0.4380	78.82	0.6511	28.47
		6	0.4160	79.97	0.4426	78.78	0.6558	28.17
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4405	79.81	0.4729	77.34	0.6116	29.07
		5	0.4351	79.86	0.4890	77.02	0.6908	25.17
		6	0.4132	79.98	0.4356	78.84	0.6381	28.15
	<b>991-563</b>	<b>2</b>	<b>0.3960</b>	<b>81.23</b>	<b>0.4070</b>	<b>80.23</b>	<b>0.4880</b>	<b>44.94</b>
		3	0.4338	79.87	0.4899	77.34	0.6737	26.81
		4	0.4133	79.98	0.4357	78.84	0.6420	28.97
	<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>	<b>3</b>	<b>0.3420</b>	<b>86.19</b>	<b>0.3510</b>	<b>85.09</b>	<b>0.4840</b>	<b>45.77</b>
		4	0.4335	79.87	0.4868	78.07	0.6808	25.17
		5	0.4129	79.98	0.4358	78.84	0.6377	28.17
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.4321	79.88	0.4438	78.76	0.6793	25.31
		5	0.4174	79.97	0.4405	78.80	0.6499	28.54
		6	0.4163	79.97	0.4430	78.77	0.6541	28.28
	1766-1354 892-845	4	0.4333	79.87	0.4454	78.75	0.6807	25.18
		5	0.4183	79.96	0.4429	78.77	0.6496	28.55
		6	0.4169	79.97	0.4445	78.76	0.6578	28.04
	1766-1354 1175-1139	4	0.4313	79.89	0.4423	78.78	0.6718	25.98
		5	0.4182	79.96	0.4409	78.79	0.6506	28.49
		6	0.4169	79.97	0.4444	78.76	0.6582	28.01

*D) Acide trans-cinnamique*

Tableau 3.6 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'acide *trans*-cinnamique par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2432	92.13	0.3240	88.38	0.4210	41.28	
		5	0.2311	92.56	0.2845	90.48	0.3212	48.69	
		6	0.2163	92.88	0.2441	91.04	0.3249	48.20	
	<b>991-563</b>		4	0.2444	92.09	0.3490	88.02	0.3504	46.60
			5	0.2398	92.28	0.3090	89.13	0.3542	46.46
			<b>6</b>	<b>0.1660</b>	<b>94.42</b>	<b>0.1790</b>	<b>93.57</b>	<b>0.2510</b>	<b>67.18</b>
	<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>		4	0.2361	92.40	0.3220	88.65	0.3788	45.93
			5	0.2295	92.60	0.2850	90.43	0.3242	48.30
			<b>6</b>	<b>0.1450</b>	<b>95.70</b>	<b>0.1550</b>	<b>94.33</b>	<b>0.2660</b>	<b>62.91</b>
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2466	92.02	0.3240	88.38	0.4970	38.65
			5	0.2212	92.80	0.2789	90.93	0.3281	48.71
			6	0.2141	92.91	0.2319	91.50	0.3418	47.91
<b>991-563</b>			4	0.2452	92.06	0.3470	88.33	0.4440	40.34
			5	0.2332	92.50	0.3140	89.53	0.3306	47.28
			<b>6</b>	<b>0.1740</b>	<b>93.87</b>	<b>0.1850</b>	<b>92.61</b>	<b>0.2410</b>	<b>69.53</b>
<b>1219-563</b>			5	0.2387	92.31	0.3220	88.69	0.4560	40.03
			6	0.2214	92.79	0.2840	90.51	0.3277	48.78
			<b>7</b>	<b>0.1270</b>	<b>96.73</b>	<b>0.1400</b>	<b>95.04</b>	<b>0.2620</b>	<b>64.02</b>
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.2343	92.46	0.2806	90.80	0.3795	45.62	
		5	0.2304	92.58	0.2596	91.24	0.3579	46.24	
		6	0.2230	92.76	0.2514	91.70	0.3498	47.79	
	1766-1354 892-845		4	0.2368	92.37	0.2807	90.78	0.3882	44.36
			5	0.2333	92.49	0.2608	91.18	0.3613	47.07
			6	0.2272	92.67	0.2615	91.13	0.3535	46.68
	1766-1354 1175-1139		4	0.2366	92.38	0.2835	90.56	0.3875	44.73
			5	0.2329	92.51	0.2621	91.09	0.3620	47.81
			6	0.2261	92.69	0.2584	91.31	0.3525	46.97

(Suite)

Dérivée première	1766-1354	4	0.2126	92.93	0.2363	91.35	0.3362	47.95
	1175-1139	5	0.2106	92.95	0.2277	91.62	0.3373	47.85
	892-845	6	0.2079	92.97	0.2193	91.82	0.3205	48.78
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	4	0.2158	92.88	0.2385	91.27	0.3481	47.27
		5	<b>0.1710</b>	<b>94.00</b>	<b>0.1980</b>	<b>92.96</b>	<b>0.3090</b>	<b>50.26</b>
		6	0.2087	92.97	0.2234	91.73	0.3227	48.50
	1766-1354 1175-1139	4	0.2154	92.89	0.2405	91.19	0.3588	46.94
		5	0.2140	92.91	0.2260	91.67	0.3428	47.67
		6	0.2112	92.94	0.2234	91.73	0.3273	48.83
Dérivée seconde	1766-1354	4	0.2788	89.13	0.2962	88.43	0.3662	45.25
	1175-1139	5	0.2133	92.92	0.2266	91.65	0.3405	47.23
	892-845	6	0.2109	92.95	0.2179	91.84	0.3215	48.66
	1766-1354 892-845	4	0.2837	88.76	0.3030	87.80	0.3737	44.22
		5	0.2130	92.92	0.2198	91.81	0.3454	47.03
		6	0.2113	92.94	0.2207	91.79	0.3259	48.05
	1766-1354 1175-1139	4	0.2893	88.31	0.3090	87.14	0.3736	44.25
		5	0.2151	92.90	0.2292	91.58	0.3496	47.84
		6	0.2120	92.94	0.2209	91.79	0.3246	48.24
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354	4	0.2139	92.91	0.2372	91.32	0.3487	47.10
	1175-1139	5	0.2126	92.93	0.2261	91.66	0.3333	47.78
	892-845	6	0.2099	92.96	0.2212	91.78	0.3236	48.38
	1766-1354 892-845	4	0.2161	92.88	0.2381	91.28	0.3526	46.95
		5	0.2147	92.90	0.2269	91.64	0.3436	47.48
		6	0.2092	92.96	0.2244	91.71	0.3226	48.52
	1766-1354 1175-1139	4	0.2186	92.84	0.2432	91.08	0.3748	44.74
		5	0.2157	92.89	0.2258	91.67	0.3522	46.09
		6	0.2135	92.92	0.2280	91.61	0.3328	47.88

*E) Acide vanillique*

Tableau 3.7 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation de l'acide vanillique par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.8422	60.95	1.1040	59.67	0.4476	79.72	
		5	0.8309	60.97	0.9792	59.81	0.4423	79.78	
		6	0.8285	61.98	0.9421	59.95	0.4580	79.58	
	1766-1354 892-845	4	0.8542	59.91	1.1100	57.63	0.4366	79.83	
		5	0.8429	60.95	1.1050	57.66	0.4578	79.58	
		6	0.8151	62.99	0.9680	60.86	0.4570	79.59	
	1766-1354 1175-1139	4	0.8392	60.96	0.9996	60.69	0.4387	79.81	
		5	0.8291	61.98	0.9835	60.78	0.4439	79.79	
		6	0.8252	61.98	0.9395	60.95	0.4595	79.55	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.8419	60.97	1.1050	57.66	0.4576	79.58
			5	0.8238	61.98	0.9523	60.92	0.4411	79.79
			6	0.8217	61.99	0.9320	60.97	0.4343	79.85
1766-1354 892-845		4	0.8483	60.93	1.1070	57.65	0.4480	79.71	
		5	0.8309	60.97	0.9939	59.73	0.4322	79.87	
		6	0.8275	61.98	0.9436	60.94	0.4501	79.68	
1766-1354 1175-1139		4	0.8360	60.96	0.9984	59.70	0.4431	79.77	
		5	0.8221	61.99	0.9794	60.81	0.4320	79.87	
		6	0.8216	61.99	0.9331	60.97	0.4367	79.83	
Soustraction d'une droite		1766-1354 1175-1139 892-845	4	0.8328	60.97	0.9663	59.86	0.4942	77.88
			5	0.8232	61.98	0.9539	60.91	0.4796	77.20
			6	0.8181	61.99	0.9285	60.97	0.4365	79.83
	1766-1354 892-845	4	0.8459	60.94	0.9849	59.78	0.5260	74.99	
		5	0.8316	60.97	0.9714	59.84	0.5040	75.64	
		6	0.8247	61.98	0.9396	60.95	0.4396	79.80	
	1766-1354 1175-1139	4	0.8351	60.96	0.9668	59.86	0.4959	77.84	
		5	0.8245	61.98	0.9550	60.91	0.4806	77.18	
		6	0.8194	61.99	0.9306	60.97	0.4364	79.83	

(Suite)

Dérivée première	1765.5-1354 1175.3-1137.9 864.1-815	4	0.8214	61.66	0.9319	60.97	0.4418	79.78
		5	0.8112	61.88	0.9228	60.98	0.4439	79.76
		6	0.8110	61.88	0.9253	60.98	0.4430	79.77
	1765.5-1354 864.1-815	4	0.8369	60.96	0.9543	59.91	0.4511	79.67
		5	0.8139	61.77	0.9356	60.96	0.4433	79.76
		6	0.8130	61.77	0.9278	60.98	0.4397	79.80
	<b>1566-1485</b>	<b>3</b>	<b>0.6360</b>	<b>68.92</b>	<b>0.6520</b>	<b>66.59</b>	<b>0.2220</b>	<b>92.89</b>
		4	0.8114	61.66	0.9220	60.99	0.4441	79.76
		5	0.8108	61.66	0.9266	60.98	0.4435	79.76
Dérivée seconde	1765.5-1354 1175.3-1137.9 864.1-815	4	0.8141	61.44	0.9180	60.99	0.4535	79.64
		5	0.8120	61.46	0.9244	60.98	0.4491	79.70
		6	0.8112	61.88	0.9297	60.97	0.4470	79.72
	<b>1566-1485</b> <b>991-563</b>	<b>3</b>	<b>0.5470</b>	<b>77.28</b>	<b>0.5680</b>	<b>76.17</b>	<b>0.3380</b>	<b>83.44</b>
		5	0.8131	61.66	0.9281	60.98	0.4495	79.69
		6	0.8114	61.77	0.9316	60.97	0.4468	79.73
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	4	0.8130	61.66	0.9172	60.99	0.4512	79.67
		5	0.8118	61.77	0.9237	60.98	0.4485	79.70
		<b>6</b>	<b>0.4020</b>	<b>88.09</b>	<b>0.4200</b>	<b>86.06</b>	<b>0.2120</b>	<b>93.48</b>
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1765.5-1354 1175.3-1137.9 864.1-815	4	0.8269	61.54	0.9396	60.95	0.4403	79.80
		5	0.8122	61.46	0.9259	60.98	0.4426	79.77
		6	0.8119	61.46	0.9283	60.98	0.4430	79.77
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	4	0.8388	60.90	0.9572	59.90	0.4442	79.75
		5	0.8138	61.77	0.9347	60.96	0.4411	79.79
		<b>6</b>	<b>0.4230</b>	<b>86.84</b>	<b>0.4030</b>	<b>85.10</b>	<b>0.2280</b>	<b>92.50</b>
	<b>1219-984</b>	5	0.8292	60.98	0.9427	59.94	0.4456	79.74
		6	0.8131	61.66	0.9261	60.98	0.4444	79.75
		<b>7</b>	<b>0.4290</b>	<b>86.64</b>	<b>0.4430</b>	<b>95.12</b>	<b>0.2020</b>	<b>94.10</b>

## F) Eugénol

Tableau 3.8 : Résultats d'optimisation, de calibration et de validation pour l'eugénol par ATR-IRTF.

Traitement spectral	Région spectrale	VL	<i>RMSEE</i>	$R^2$	<i>RMSECV</i>	$R^2$	<i>RMSEP</i>	$R^2$	
Pas de prétraitement	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0978	78.51	1.1580	77.64	1.1380	77.16	
		5	1.0589	80.82	1.1460	77.83	1.0915	78.19	
		6	1.0541	80.85	1.1520	77.73	1.0641	79.60	
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	3	<b>0.8290</b>	<b>86.98</b>	<b>0.8410</b>	<b>85.22</b>	<b>0.7730</b>	<b>84.88</b>	
		4	<b>0.8370</b>	<b>86.73</b>	<b>0.8500</b>	<b>84.87</b>	<b>0.7980</b>	<b>83.87</b>	
		5	1.0739	79.73	1.2030	77.73	1.0909	78.20	
	1766-1354 1175-1139	4	1.0917	78.57	1.1500	77.77	1.1490	77.86	
		5	1.0579	80.83	1.1390	77.95	1.0912	78.20	
		6	1.0539	80.85	1.1560	77.67	1.0738	79.48	
	Correction d'offset	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0981	78.51	1.1490	77.78	1.1400	77.11
			5	1.0461	80.89	1.1270	77.12	1.1090	78.85
			6	1.0441	80.90	1.0962	78.49	1.0753	79.45
<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>		3	<b>0.8730</b>	<b>80.70</b>	<b>0.8890</b>	<b>79.44</b>	<b>0.8730</b>	<b>80.70</b>	
		4	1.0711	79.74	1.1260	77.12	1.1120	78.79	
		5	1.0662	79.78	1.1600	76.59	1.1070	78.90	
<b>1566-1485</b>		3	<b>0.9240</b>	<b>83.85</b>	<b>0.9380</b>	<b>91.88</b>	<b>0.2020</b>	<b>88.69</b>	
		4	1.0489	80.88	1.1190	78.22	1.1070	78.90	
		5	1.0468	80.89	1.1200	77.21	1.0784	79.41	
Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0701	79.75	1.0941	78.51	1.1350	77.23	
		5	1.0600	79.82	1.0968	78.49	1.0910	78.20	
		6	1.0518	80.87	1.1170	78.25	1.1280	77.42	
	<b>1566-1485</b>	3	<b>0.9190</b>	<b>84.01</b>	<b>0.9330</b>	<b>83.09</b>	<b>0.7100</b>	<b>87.25</b>	
		4	1.0723	79.73	1.1160	78.26	1.1220	77.56	
		5	1.0628	79.80	1.1420	77.89	1.1340	77.27	
	<b>1566-1485</b> <b>1219-563</b>	3	<b>0.8260</b>	<b>87.08</b>	<b>0.8470</b>	<b>86.11</b>	<b>0.7870</b>	<b>84.32</b>	
		4	1.0643	79.79	1.1030	78.41	1.0968	78.10	
		5	1.0558	80.84	1.1270	77.12	1.1330	77.29	

(Suite)

Dérivée première	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0387	80.92	1.0478	80.87	1.0828	78.34
		5	1.0279	80.96	1.0481	80.87	1.0866	78.28
		6	1.0253	80.97	1.0648	79.77	1.1130	78.77
	1766-1354 892-845	4	1.0543	80.85	1.0669	79.75	1.1020	78.00
		5	1.0341	80.94	1.0757	79.69	1.0954	78.12
		6	1.0302	80.95	1.0754	79.69	1.1300	77.37
	1766-1354 1175-1139	4	1.0424	80.91	1.0539	80.84	1.1130	78.78
		5	1.0308	80.95	1.0598	80.80	1.1070	78.89
		6	1.0250	80.97	1.0696	79.73	1.1270	77.44
Dérivée seconde	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.1150	78.32	1.1450	77.85	1.1600	76.52
		5	1.0277	80.96	1.0585	80.81	1.0980	78.08
		6	1.0233	80.97	1.0552	80.83	1.1050	78.94
	1766-1354 892-845	4	1.1210	77.25	1.1520	76.73	1.1690	76.25
		5	1.0299	80.95	1.0512	80.86	1.1050	78.94
		6	1.0262	80.97	1.0577	80.82	1.1220	77.57
	1766-1354 1175-1139	4	1.1310	77.12	1.1660	76.49	1.1710	76.18
		5	1.0307	80.95	1.0551	80.83	1.1090	78.85
		6	1.0248	80.97	1.0667	80.76	1.1100	78.83
Dérivée première + Soustraction d'une droite	1766-1354 1175-1139 892-845	4	1.0433	80.90	1.0539	80.84	1.0975	78.08
		5	1.0303	80.95	1.0675	79.75	1.0949	78.13
		6	1.0261	80.97	1.0583	79.81	1.1240	77.52
	1766-1354 892-845	4	1.0546	80.85	1.0677	79.75	1.1110	78.81
		5	1.0342	80.94	1.0604	79.80	1.1030	78.97
		6	1.0294	80.96	1.0752	79.69	1.1360	77.21
	1766-1354 1175-1139	4	1.0499	80.87	1.0639	79.78	1.1330	77.29
		5	1.0344	80.94	1.0546	80.84	1.1200	77.62
		6	1.0238	80.97	1.0756	79.69	1.1200	77.61

Le tableau 3.9 présente les paramètres analytiques optimaux pour la validation des modèles d'étalonnage correspondant à chaque étalon.

Tableau 3.9 : Récapitulatif des paramètres analytiques de calibration, validation et prédiction des meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF des six standards étudiés.

Composés	Appellation des modèles sélectionnés	Traitements spectrales	Régions spectrales $\text{cm}^{-1}$	VL	$RMSEE$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Cal}$	$RMSECV$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{CV}$	$RMSEP$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Pred}$
Acide Gallique	ModAG-1	Dérivée première	1566-1485-1219-563	5	0.33	94.40	0.39	92.76	0.259	95.66
	ModAG-2	Pas de traitements	1566-1485-1219-563	4	0.41	91.10	0.45	89.88	0.253	95.85
	ModAG-3		1219-984	5	0.36	93.40	0.37	92.09	0.277	95.03
	ModAG-4		1219-984	4	0.38	92.67	0.38	91.44	0.266	96.68
	ModAG-5		Dérivée première+ soustraction d'une droite	1566-1485-1219-563	6	0.34	94.27	0.34	94.51	0.379
Acide Salicylique	ModAS-1	Pas de traitements	1566-1485-991-563	4	0.23	93.65	0.24	92.97	0.547	30.81
	ModAS-2	Dérivée première	1566-1485	3	0.37	83.46	0.40	82.34	0.533	34.32
	ModAS-3	Dérivée seconde	991-563	2	0.40	81.23	0.41	80.23	0.488	44.94
	ModAS-4		1566-1485-991-563	3	0.34	86.19	0.35	85.09	0.484	45.77
Acide Trans-cinnamique	ModATC-1	Pas de traitements	991-563	6	0.17	94.42	0.18	93.57	0.251	67.18
	ModATC-2		1566-1485-991-563	6	0.15	95.70	0.16	94.33	0.266	62.91
	ModATC-3	correction d'Offset	991-563	6	0.17	93.87	0.19	92.61	0.241	69.53
	ModATC-4		1219-563	7	0.13	96.73	0.14	95.04	0.262	64.02
	ModATC-5		Dérivée première	1566-1485-1219-563	5	0.17	94.00	0.20	92.96	0.309
Acide Vanillique	ModAV-1	Dérivée première	1566-1485	3	0.64	68.92	0.65	66.59	0.222	92.89
	ModAV-2	Dérivée seconde	1566-1485-991-563	3	0.55	77.28	0.57	76.17	0.338	83.44
	ModAV-3		1566-1485-1219-563	6	0.40	88.09	0.42	86.06	0.212	93.48
	ModAV-4		Dérivée première+ soustraction d'une droite	1566-1485-1219-563	6	0.42	86.84	0.40	85.10	0.228
	ModAV-5		1219-984	7	0.43	86.64	0.44	95.12	0.202	94.10

Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	ModAHB-1	Pas de traitements	1566-1485	3	0.80	81.08	0.82	79.89	0.651	72.78
			991-563							
	ModAHB-2		1219-984	3	0.74	83.90	0.75	82.38	0.828	55.91
	ModAHB-3	correction d'Offset	1566-1485	3	0.77	82.30	0.79	80.97	0.707	67.84
	991-563									
ModAHB-4		1566-1485	7	0.66	87.69	0.68	86.07	0.799	58.97	
			1219-563							
Eugénol	ModE-1	Pas de traitements	1566-1485	3	0.83	86.98	0.84	85.22	0.773	84.88
	ModE-2		1219-563	4	0.84	86.73	0.85	84.87	0.798	83.87
	ModE-3	soustraction d'une droite	1566-1485	3	0.92	84.01	0.93	83.09	0.710	87.25
	ModE-4		1566-1485	3	0.83	87.08	0.85	86.11	0.787	84.32
				1219-563						
	ModE-5	correction d'Offset	1566-1485	3	0.87	80.7	0.89	79.44	0.873	80.70
ModE-6			1219-563							
			1566-1485	3	0.92	83.85	0.94	91.88	0.202	88.69

### 3.3.3 Analyse de chaque acide phénolique présent dans les différents mélanges d'échantillons synthétiques par prédiction interne

Pour choisir les modèles optimaux parmi ceux présentés dans le tableau 3.9, nous avons procédé au calcul de l'erreur relative (Er), correspondant à la comparaison entre les valeurs de concentrations ajoutées et trouvées des mesures PLS-ATR-IRTF, de neuf mélanges synthétiques contenant les différents acides phénoliques dans des proportions différentes comme indiqué dans le tableau 3.10.

Tableau 3.10 : Composition chimique de chaque mélange synthétique.

Acides Phénoliques	Ajouté mg ml <sup>-1</sup>								
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Acide Gallique	2.5	/	2.5	/	/	2.5	2.5	/	/
Acide Salicylique	1.50	1.50	0.5	0.5	/	/	/	/	1.50
Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1	/	0.5	/	1	1	0.5	/	/
Acide Vanillique	/	2	/	2	/	/	/	/	/
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	/	3	/	3	/	/	/	/	/
Eugénol	4	/	4	/	/	4	4	4	/



Acide Vanillique	ModAV-1	/	15.76	/	5.30	/	/	/	/	/
	ModAV-2	/	19.63	/	7.22	/	/	/	/	/
	ModAV-3	/	13.85	/	2.36	/	/	/	/	/
	ModAV-4	/	17.06	/	5.98	/	/	/	/	/
	ModAV-5	/	19.64	/	4.94	/	/	/	/	/
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	ModAHB-1	/	21.52	/	14.94	/	/	/	/	/
	ModAHB-2	/	19.45	/	18.50	/	/	/	/	/
	ModAHB-3	/	20.98	/	15.81	/	/	/	/	/
	ModAHB-4	/	18.95	/	12.66	/	/	/	/	/
Eugénol	ModE-1	4.95	/	4.65	/	/	14.21	19.32	11.76	/
	ModE-2	0.32	/	2.98	/	/	11.05	18.18	14.34	/
	ModE-3	3.43	/	3.54	/	/	13.54	19.81	11.04	/
	ModE-4	5.07	/	1.7	/	/	10.32	16.40	13.54	/
	ModE-5	4.11	/	4.98	/	/	8.98	12.55	9.61	/
	ModE-6	3.32	/	5.03	/	/	9.85	15.26	14.73	/

Tableau 3.12 : Récapitulatif du tableau 3.11 des montrant les meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF spécifique à chaque étalon dans les différents mélanges synthétiques en utilisant les modèles PLS présentés dans le tableau 3.9.

Mélanges synthétiques	Modèles sélectionnés	Acides phénoliques	Ajouté $mg\ ml^{-1}$	calculé $mg\ mL^{-1}$	Er %
M1	ModATC-4	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1.0	1.018	1.8
	ModAS-1	Acide Salicylique	1.5	1.525	1.7
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	ModAG-2	Acide Gallique	2.5	2.526	1.1
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	ModE-2	Eugénol	4.0	4.013	0.3
M2	/	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.0	/	/

	ModAS-3	Acide Salicylique	1.5	1.101	26.6
	ModAV-3	Acide Vanillique	2.0	2.277	13.9
	/	Acide Gallique	0.0	/	/
	ModAHB-4	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	3.0	3.568	18.9
	/	Eugénol	0.0	/	/
M3	ModATC-4	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.5	0.762	52.5
	ModAS-4	Acide Salicylique	0.5	0.415	16.9
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	ModAG-2	Acide Gallique	2.5	2.476	0.9
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	ModE-4	Eugénol	4.0	4.068	1.7
M4	/	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.0	/	/
	ModAS-4	Acide Salicylique	0.5	0.718	43.7
	ModAV-3	Acide Vanillique	2.0	2.047	2.4
	/	Acide Gallique	0.0	/	/
	ModAHB-4	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	3.0	3.380	12.7
	/	Eugénol	0.0	/	/
M5	ModATC-4	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1.0	0.756	24.4
	/	Acide Salicylique	0.0	/	/
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	/	Acide Gallique	0.0	/	/
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	/	Eugénol	0.0	/	/

M6	ModATC-1	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1.0	0.881	11.8
	/	Acide Salicylique	0.0	/	/
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	ModAG-2	Acide Gallique	2.5	2.348	6.1
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	ModE-5	Eugénol	4.0	4.359	8.9
M7	ModATC-1	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.5	0.550	10.0
	/	Acide Salicylique	0.0	/	/
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	ModAG-2	Acide Gallique	2.5	2.277	8.9
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	0	/
	ModE-5	Eugénol	4.0	3.498	12.6
M8	/	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.0	/	/
	/	Acide Salicylique	0.0	/	/
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	/	Acide Gallique	0.0	/	/
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	ModE-5	Eugénol	4.0	3.615	9.6
M9	/	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.0	/	/
	ModAS-3	Acide Salicylique	1.5	1.237	17.5
	/	Acide Vanillique	0.0	/	/
	/	Acide Gallique	0.0	/	/
	/	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.0	/	/
	/	Eugénol	0.0	/	/

### 3.3.4 Étalonage, validation et prédiction PLS-ATR-IRTF des meilleurs modèles d'acides phénoliques totaux

L'objectif de cette partie est de passer de la détermination spécifique des acides phénoliques à la détermination des acides phénoliques totaux en développant un modèle d'intégration à partir des matrices d'étalonnage déjà établies.

L'idée consiste à (1) introduire dans la matrice d'étalonnage une colonne d'acides phénoliques totaux, (2) considérer la concentration en acides phénoliques totaux comme étant la somme des concentrations d'acides phénoliques présentes dans les mélanges (3) sélectionner une zone spectrale commune à tous les acides phénoliques considérés dans cette étude.

Le tableau 3.13 indique les zones spectrales optimales de chaque standard et les acides phénoliques totaux, en spécifiant que pour les acides phénoliques totaux, chaque zone a été testée séparément et n'est donc pas incluse dans la plage optimisée pour les six standards.

Tableau 3.13 : Modèle optimal et zones spectrales de chaque acide phénolique standard et total.

Standards et phénols totaux	Meilleur modèle sélectionné	Zones spectrales optimales cm <sup>-1</sup>
Acide <i>Trans</i> -cinnamique	ModTCA-1	991-563
	ModTCA-4	1219-563
Acide Salicylique	ModSA-3	991-563
	ModSA-1, ModSA-4	1566-1485; 991-563
Acide Vanillique	ModVA-3	1566-1485; 1219-563
Acide Gallique	ModGA-2	1566-1485; 1219-563
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	ModHBA-4	1566-1485; 1219-563
Eugénol	ModE-2; ModE-4; ModE-5	1566-1485; 1219-563
Phénols totaux	ModTP-1	1737-1624
	ModTP-6	1737-1642
	ModTP-9	1912-1487

Le résultat du tableau 3.14 montre les paramètres analytiques des acides phénoliques totaux en considérant les régions spectrales à 1912-1487  $\text{cm}^{-1}$ , 1737-1642  $\text{cm}^{-1}$  et 1737-1624  $\text{cm}^{-1}$  et les différents prétraitements des spectres comme la correction d'offset, la soustraction d'une droite, la première dérivée et la deuxième dérivée. Nous avons choisi la gamme spécifique et représentative de fréquences pour la quantification des acides phénoliques totaux, considérés dans cette étude, entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ .

Tableau 3.14 : Paramètres analytiques de calibration, validation et prédiction des meilleurs modèles PLS-ATR-IRTF des acides phénoliques totaux.

Zones spectrales optimales $\text{cm}^{-1}$	Modèle sélectionné	Traitements spectraux	LV	$RMSEE$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Cal}$	$RMSECV$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{CV}$	$RMSEP$ $\text{mg mL}^{-1}$	$R^2_{Pred}$
1737-1624	ModPT-1	Pas de traitement	4	2.23	65.47	2.45	66.87	1.55	64.99
	ModPT-2	Soustraction d'une ligne	6	2.02	72.21	2.25	73.04	1.57	64.44
	ModPT-3	correction d'Offset	4	2.40	60.02	2.66	61.77	1.61	62.22
	ModPT-4	Dérivée seconde	6	1.73	79.66	1.91	80.10	1.75	55.78
1737-1642	ModPT-5	correction d'Offset	4	2.36	61.28	2.57	62.08	1.57	64.13
	ModPT-6	Soustraction d'une ligne	4	2.44	58.60	2.68	59.97	1.45	69.42
	ModPT-7	Pas de traitement	4	2.19	66.78	2.34	67.13	1.61	62.24

1912-1487	ModPT-8	correction d'Offset	4	1.79	77.71	1.96	78.88	1.41	71.33
	ModPT-9	Dérivée première+ Soustraction d'une ligne	7	1.81	77.88	2.02	78.94	1.32	74.68
	ModPT-10	Pas de traitement	4	1.79	77.68	2.04	78.80	1.33	74.33
	ModPT-11	Dérivée première	7	1.81	74.81	1.98	75.97	1.31	74.98
	ModPT-12	Dérivée seconde	4	1.89	75.19	2.14	77.23	1.67	59.47
	ModPT-13	Soustraction d'une ligne	4	1.81	77.37	2.10	78.12	1.47	68.52

### 3.3.5 Analyse des acides phénoliques totaux dans des échantillons synthétiques en utilisant la prédiction interne

Pour tester l'applicabilité de la stratégie développée, la comparaison entre les valeurs des concentrations théoriques et trouvées des acides phénoliques totaux en appliquant les modèles d'intégration optimaux, ModTP-1, ModTP-6, ModTP-9, ont été obtenues. Le tableau 3.15 résume les données trouvées, comme on peut le voir, le taux d'erreur relative est faible, en particulier dans la zone commune entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$  par des mesures ATR-IRTF sur film éthanolique sec. En générale, nous avons remarqué que la précision de prédiction des concentrations d'acides phénoliques totaux dans les échantillons synthétiques est élevée pour toutes les régions considérés comme montré dans le tableau 3.13.

Tableau 3.15 : Analyse des acides phénoliques totaux dans les mélanges synthétiques par prédiction interne.

Zones spectrales optimales cm <sup>-1</sup> / modèle sélectionné	Mélanges Synthétique	Ajouté* mg ml <sup>-1</sup>	Calculé mg mL <sup>-1</sup>	Er%
1737-1624 ModTP-1	M1	9	9.442	4.91
	M2	6.5	5,896	9.29
	M3	7.5	8.318	10.91
	M4	5.5	5.071	7.80
	M5	1	1.204	20.40
	M6	7.5	8.194	9.25
	M7	7	7.019	0.27
	M8	4	4.341	8.53
	M9	1.5	1,903	26.87
1737-1642 ModTP-6	M1	9	8.652	3.86
	M2	6.5	7.092	9.11
	M3	7.5	7.820	4.27
	M4	5.5	8.112	47.49
	M5	1	4.170	316.73
	M6	7.5	7.430	0.93
	M7	7	5.979	14.58
	M8	4	3.742	6.45
	M9	1.5	1.619	7.93
1912-1487 ModTP-9	M1	9	9.621	6.90
	M2	6.5	7.103	7.07
	M3	7.5	7.119	9.27
	M4	5.5	6.901	25.47
	M5	1	2.101	110.10
	M6	7.5	7.791	3.88
	M7	7	6.617	5.47
	M8	4	3.429	14.28
	M9	1.5	2.431	96.84

### 3.3.6 Erreur relative calculée de chaque étalon par prédiction interne avec la même plage sélectionnée pour les acides phénoliques totaux à 1737-1624cm<sup>-1</sup>

Le tableau 3.16 montre l'erreur relative calculée de chaque étalon par prédiction interne entre 1737 et 1624 cm<sup>-1</sup>, les résultats indiquent que le taux d'erreur relatif de chaque étalon dans les mélanges synthétiques est beaucoup plus élevé que lorsqu'ils ne sont pas dans la zone des acides phénoliques totaux, ces résultats s'expliquent par le fait que les zones spectrales optimisées des étalons étant comprises entre 1566 et 563 cm<sup>-1</sup> sont dans la zone des régions d'empreintes digitales entre 1500 et 400 cm<sup>-1</sup>.

Tableau 3.16 : Er calculé de chaque étalon par prédiction interne à 1737-1624cm<sup>-1</sup>.

Mélanges Synthétique	Acides Phénolique	Ajouté mg ml <sup>-1</sup>	Calculé mg mL <sup>-1</sup>	Er%
M1	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1	0.970	3.30
	Acide Salicylique	1.5	1.058	29.42
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	2.5	3.314	32.57
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	4	3.378	15.55
M2	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0	/	/
	Acide Salicylique	1.5	0.746	50.25
	Acide Vanillique	2	2.350	17.53
	Acide Gallique	0	/	/
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	3	4.365	45.52
	Eugénol	0	/	/
M3	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.5	0.930	86.48
	Acide Salicylique	0.5	0.507	1.49
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	2.5	2.688	7.55
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	4	4.143	3.58
M4	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0	/	/

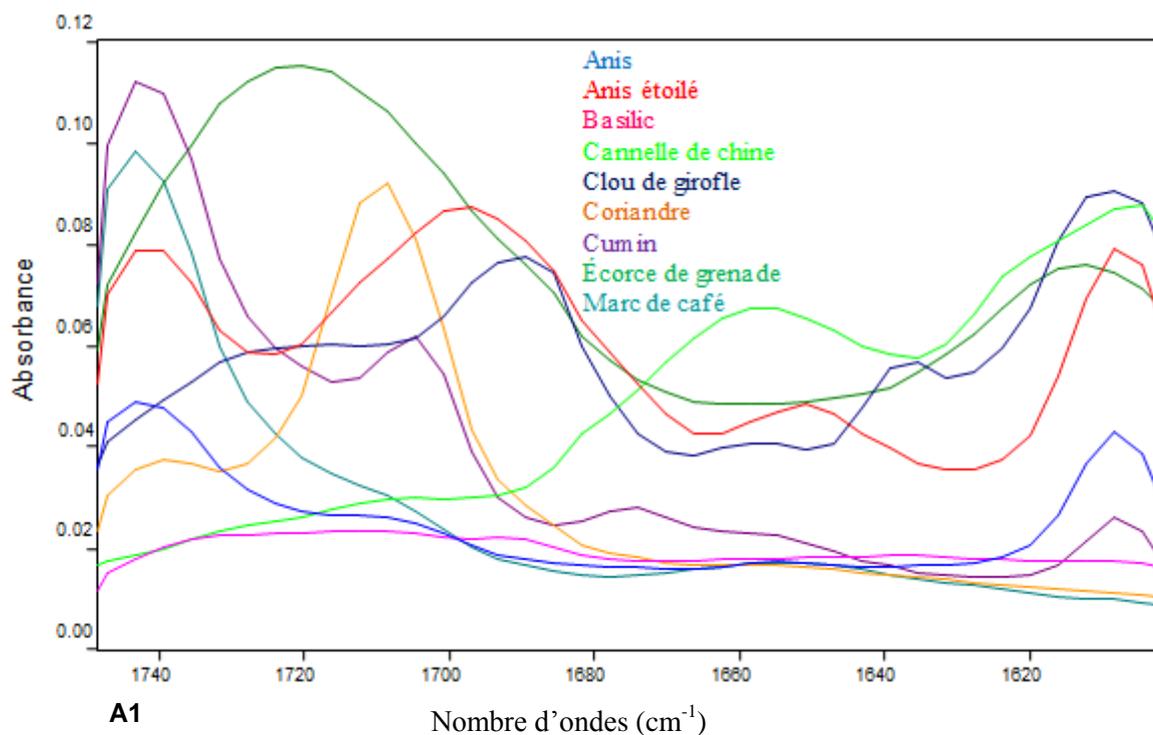
	Acide Salicylique	0.5	0.952	90.55
	Acide Vanillique	2	2.125	6.28
	Acide Gallique	0	/	/
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	3	3.732	24.41
	Eugénol	0	/	/
M5	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1	0.840	15.66
	Acide Salicylique	0	/	/
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	0	/	/
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	0	/	/
M6	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	1	1.014	1.42
	Acide Salicylique	0	/	/
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	2.5	2.482	0.72
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	4	4.052	1.29
M7	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0.5	0.483	3.42
	Acide Salicylique	0	/	/
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	2.5	2.423	3.08
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	0	/
	Eugénol	4	2.658	33.54
M8	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0	/	/
	Acide Salicylique	0	/	/
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	0	/	/
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	4	3.883	2.93

M9	Acide <i>Trans</i> -cinnamique	0	/	/
	Acide Salicylique	1.5	0.454	69.73
	Acide Vanillique	0	/	/
	Acide Gallique	0	/	/
	Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0	/	/
	Eugénol	0	/	/

En conclusion, le modèle de prédiction des acides phénoliques totaux n'est pas adéquat pour la prédiction des phénols spécifiques présents dans les différents mélanges.

### 3.3.7 Quantification des phénols spécifiques et déduction des acides phénoliques totaux contenus dans les extraits de plantes par spectres PLS-ATR-IRTF d'extraits de plantes aromatiques

La figure 3.3, montre les spectres IRTF d'extraits de plantes aromatiques en mode ATR dans les zones spectrales entre 1750 et 1600  $\text{cm}^{-1}$  où est la région commune aux acides phénoliques entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ .



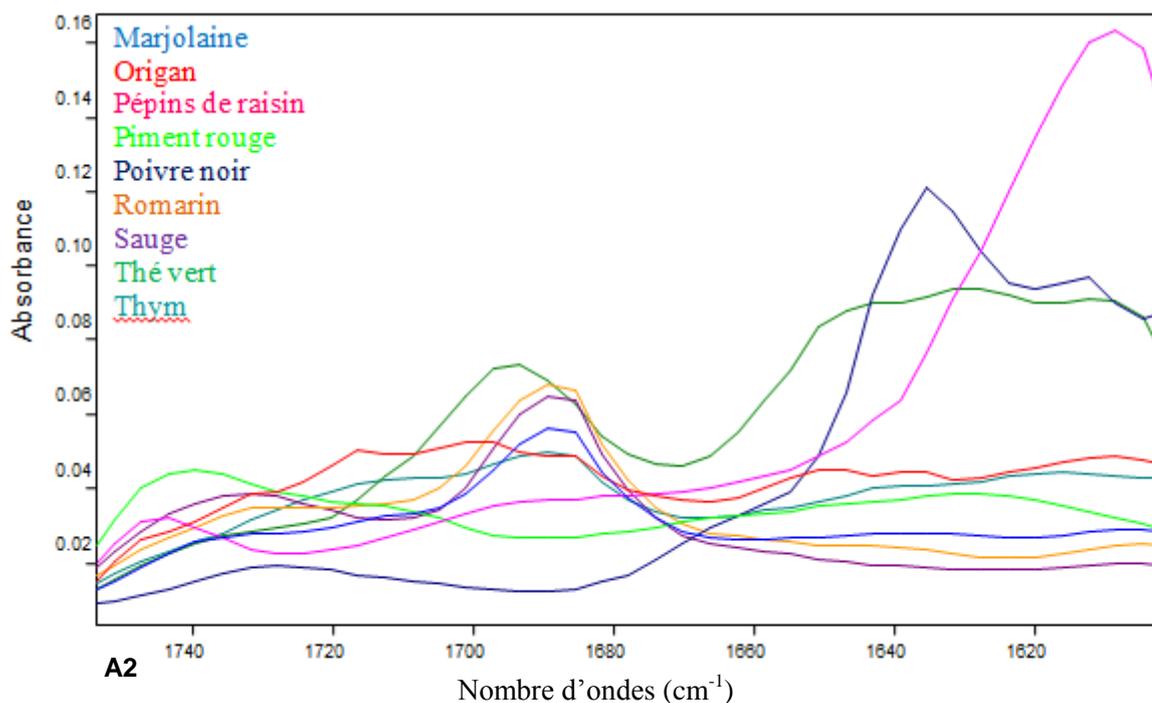
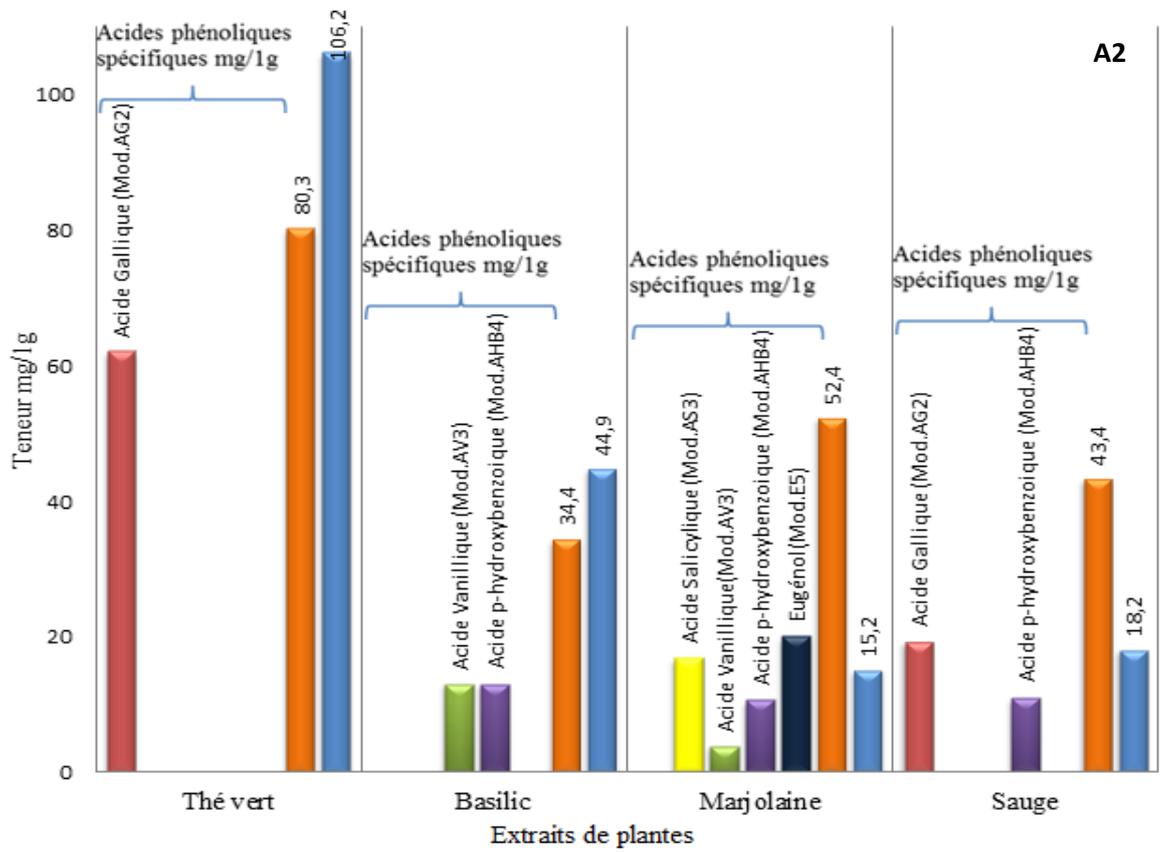
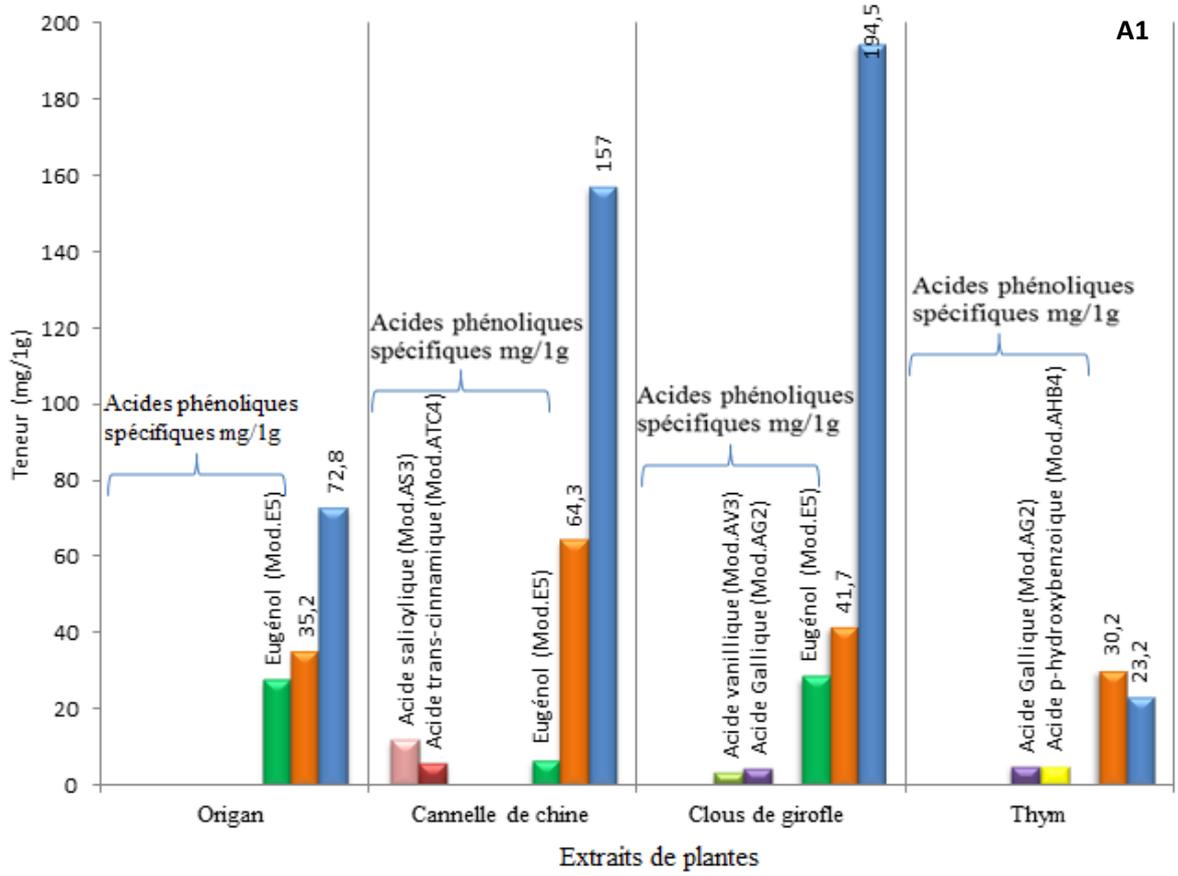


Figure 3.3 : Les spectres ATR-IRTF des extraits éthanolique de clou de girofle, cannelle, anis étoilé, anis, coriandre, basilic, cumin, écorce de grenade et marc de café (A1). De thym, origan, romarin, marjolaine, pépins de raisin, piment rouge, poivre noir, sauge et thé vert (A2). 1,5 g de chaque plante sèches a été macéré dans 5 ml d'éthanol pendant 72 heures. Les spectres ont été obtenus en accumulant 20 balayages avec une résolution spectrale de  $8 \text{ cm}^{-1}$  à partir du film sec formé par évaporation de  $0.5 \mu\text{l}$  de chaque solution.

L'analyse des extraits éthanoliques des plantes est reprise dans la figure 3.4 en utilisant les mesures PLS-ATR-IRTF. Les résultats ont montré que le taux d'acides phénoliques totaux est plus faible lors de la quantification avec la prédiction externe qu'avec la méthode Folin-Ciocalteu, ce qui signifie que la quantification des composés phénoliques totaux n'est pas spécifique et peu sélective avec la méthode Folin-Ciocalteu et qui peut être expliqué par le fait qu'il y ait des interférences avec d'autres composés. La méthode d'étalonnage PLS est donc plus précise et complète, avec l'avantage supplémentaire de la possibilité d'examiner directement les extraits éthanoliques obtenus à partir de plantes sans avoir besoin de charger le solvant pour obtenir une gamme de fréquences étendu sans interactions avec le solvant. L'étude développée permet aussi bien la quantification des acides phénoliques, considérés dans cette étude, présents dans l'extrait que celle des acides phénoliques totaux et ce, en utilisant les modèles correspondants à chaque acides phénoliques ainsi qu'aux acides phénoliques totaux.



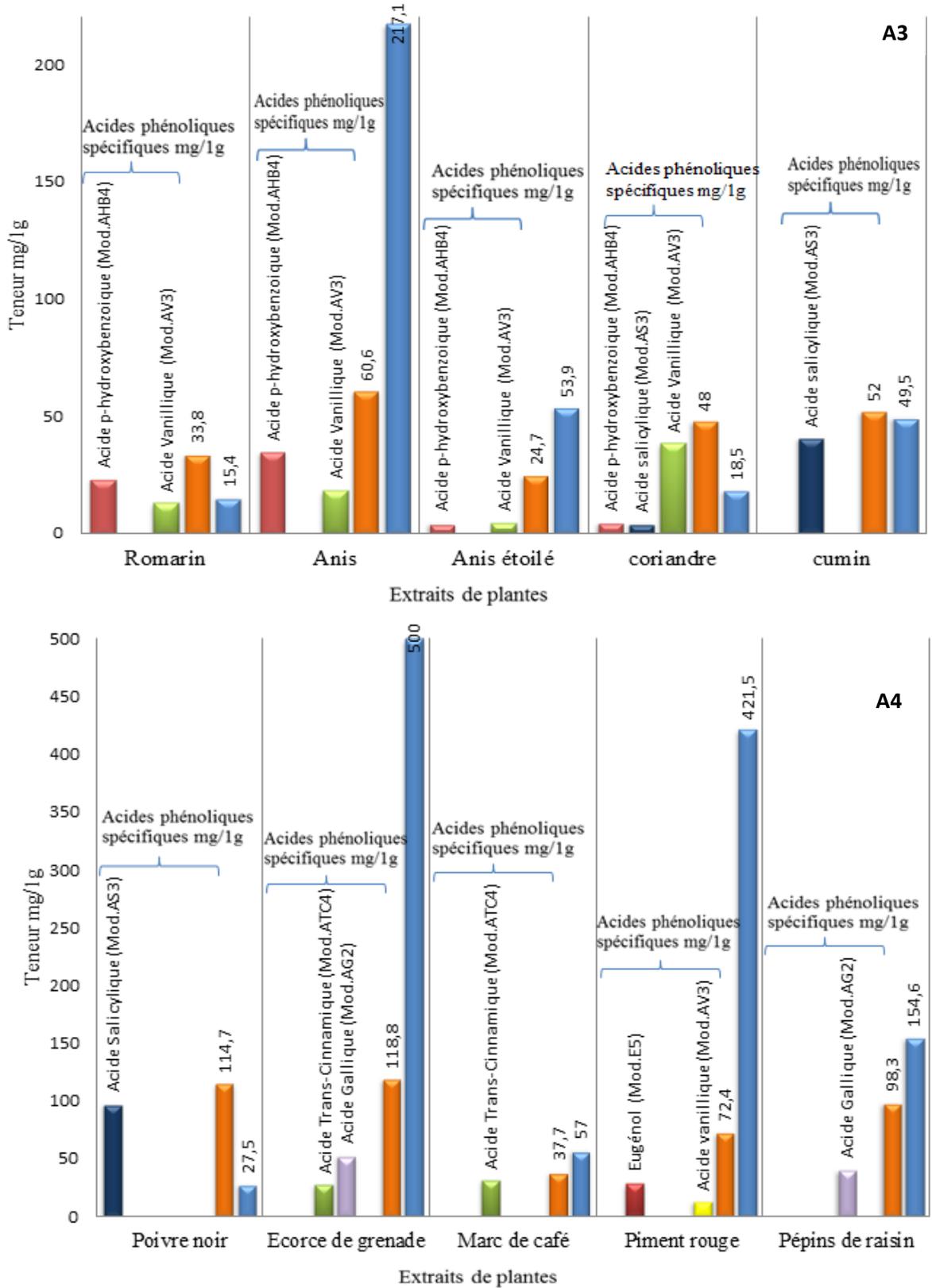


Figure 3.4 : Quantification des acides phénoliques spécifiques et déduction des acides phénoliques totaux contenus dans les dix-huit extraits (A1, A2, A3 et A4) par prédiction externe en utilisant la PLS-ATR-IRTF (Mod.TP1) et par la méthode Folin-Ciocalteu.

### 3.4 Conclusion

Ce travail visait à passer de la détermination spécifique des acides phénoliques à la détermination des acides phénoliques totaux en développant un modèle d'intégration à partir de matrices d'étalonnage déjà établies.

L'idée était d'introduire une colonne d'acides phénoliques totaux dans la matrice d'étalonnage, en prenant en compte la concentration totale en acide phénolique comme valeur totale des concentrations en acide phénolique présentes dans les mélanges et en sélectionnant une zone spectrale commune à tous les acides phénoliques considéré dans cette étude entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ .

Cette étude a mis en évidence la possibilité de réaliser un dosage rapide, précis et simultané de divers acides phénoliques pouvant être présents dans un mélange dans des proportions différentes.

La quantification directe du taux d'acides phénoliques totaux dans différents extraits végétaux a été possible grâce à la méthodologie simple et rapide basée sur l'analyse PLS-ATR-IRTF sans aucun traitement préalable, offrant ainsi un outil complémentaire aux chercheurs travaillant dans le domaine des substances naturelles.

## CONCLUSION GENERALE

Nous avons pu conclure, lors de ce travail, que les modèles univariés ne peuvent pas fournir des résultats précis de la quantification simultanée des composés cibles et pour cette raison, nous avons fait appel aux méthodes de calibration multivariées. Des modèles (PLS-IRTF) ont été conçus afin d'obtenir une bonne corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs réelles des mélanges synthétiques des composés étudiés.

Afin de vérifier l'effet de la composante de la matrice de calibration sur la teneur prédite, les modèles PLS-IRTF ont été construits sur la base de deux matrices de calibrations différentes : (i) matrice des acides phénoliques de même classe (classe d'acides hydroxybenzoïques) et (ii) matrice des acides phénoliques de différentes classes (classes d'acides hydroxybenzoïques + hydroxycinnamiques + phénols simple + phénols mono-terpénique).

Les résultats de prédiction obtenus le long de cette étude et validés par l'optimisation des paramètres analytiques ont confirmé que la quantification de composés phénoliques est indépendante de la composante de la matrice de calibration PLS-IRTF pourvu que ce composé figurera dans la matrice.

La méthode ATR-PLS-IRTF développée a été appliquée pour la quantification directe simultanée rapide et précise des acides phénoliques présents dans les extraits de plantes de thym (*Thymus vulgaris*), d'origan (*Origanum vulgare*), de romarin (*Salvia Rosmarinus*), de cannelles (*Cinnamomum cassia*) et de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*).

L'idée principale du troisième chapitre découle de l'étude précédente car nous passons de la quantification des acides phénoliques spécifiques individuels à la déduction de la teneur des acides phénoliques totaux contenus dans les extraits des plantes aromatiques par PLS-ATR-IRTF et ce, sans expérimental supplémentaire.

Au cours de cette étude, nous avons exploité la méthode de quantification spécifique des acides phénoliques pour en déduire la teneur en acides phénoliques totaux dans différents extraits de plantes aromatiques par PLS-ATR-IRTF. Pour ce faire, nous avons commencé par trouver les modèles optimaux pour chaque phénol considéré, puis nous avons développé un modèle pour les acides phénoliques totaux. La détermination de ce dernier repose sur deux points (i) introduire dans la matrice d'étalonnage une colonne d'acides phénoliques totaux où

la concentration en acides phénoliques totaux est calculée comme étant la somme des concentrations d'acides phénoliques présentes dans les mélanges (ii) sélectionner une zone spectrale commune à tous les acides phénoliques considérés dans cette étude, entre 1737 et 1624  $\text{cm}^{-1}$ , sans qu'elle soit exploitée pour la quantification spécifiques.

Les résultats ont montré que les différents acides phénoliques présents dans des mélanges, dans des proportions différentes peuvent être quantifiés rapidement, précisément et simultanément. Grâce à la méthode PLS-ATR-IRTF simple et rapide, il est possible de quantifier, lors d'une même analyse, la teneur en acides phénoliques spécifique et totaux dans différents extraits de végétaux sans aucun prétraitement, offrant ainsi un outil complémentaire aux chercheurs travaillant dans le domaine des substances naturelles.

L'accomplissement de ces travaux a été concrétisés par une publication internationale dans une revue de classe A, « *Phytochemical Analysis* », chez John Wiley & Sons avec un impact factor (IF) de 3.373 sous le titre « *Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants* ».

#### Perspectives :

La démarche entreprise dans cette thèse pour la quantification des acides phénoliques spécifiques et des acides phénoliques totaux dans les extraits de plantes aromatiques et médicinales permettrait d'élargir le spectre des applications de ces molécules. Cette démarche est parfaitement transposable à l'établissement de bases de données pour chaque classe de phénols mais aussi à d'autres végétaux que les plantes aromatiques comme les légumes, les fruits, les céréales et leurs coproduits qui sont naturellement riches en phénols. Nous pouvons aussi envisager de développer d'autres modèles via d'autres logiciels statistique pour contribuer à des études chimiotauxonomiques.

## REFERENCES

1. Jain, S.K., “Medicinal Plants”, National Book Trust, 4th Edition, New Delhi, India, (January 2016), 216 p.
2. Ducourthial, G., « Flore médicale des signatures : XVI<sup>e</sup>-XVII<sup>e</sup> siècles », L'Harmattan, (Juin 2016), 672 p.
3. Padulosi S., Leaman D. and Quek P., « Challenges and Opportunities in Enhancing the Conservation and Use of Medicinal and Aromatic Plants », *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, V. 9, n° 4, (October 2002), 243-267.
4. Najjaa H., Zouari S., Arnault I., Auger J., Ammar E. and Neffati M., « Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L », *Acta Botanica Gallica*, V. 158, n° 1, (January 2011), 111-123.
5. Chang, J., “Medicinal herbs: Drugs or dietary supplements?”, *Biochemical Pharmacology*, V. 59, n° 3, (February 2000), 211–219.
6. Li, T.S.C., “The range of medicinal herbs and spices”, *Handbook of Herbs and Spices*, Peter, K.V., Ed.; Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Cambridge, UK, V. 3, (2006), 113–125.
7. Piccaglia, R., Marotti, M., Giovanelli, E., Deans, S.G. and Eaglesham, E., “Antibacterial and antioxidant properties of mediterranean aromatic plants”, *Industrial Crops and Products*, V. 2, n°1, (August 1993), 47–50.
8. Collin, H., “Herbs, spices and cardiovascular disease”, *Handbook of Herbs and Spices*, Peter, K.V., Ed.; Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK, V. 3, (2006), pp. 126–137.
9. Gurib-Fakim, A., “Medicinal plants: Traditions of yesterday and drugs of tomorrow”, *Molecular Aspects of Medicine*, V. 27, n°1, (February 2006), 1–93.
10. Windisch, W., Rohrer, E. and Schedle, K., “Phytogenic feed additives to young piglets and poultry: Mechanisms and application. In *Phytogenics in Animal Nutrition: Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performance*”, Steiner, T., Ed.; Nottingham University Press: Nottingham, UK, (2009), pp. 19–38.

11. Brenes, A. and Roura, E., “Essential oils in poultry nutrition: Main effects and modes of action”, *Animal Feed Science and Technology*, V. 158, n°1-2, (June 2010), 1–14.
12. Varel, V.H., “Livestock manure odor abatement with plant-derived oils and nitrogen conservation with urease inhibitors: A review”, *Journal of Animal Science*, V. 80, n°2, (January 2002), 1–7.
13. Greathead, H., “Plants and plant extracts for improving animal productivity”, *Proceedings of the Nutrition Society*, V. 62, n°2, (May 2003), 279–290.
14. Barton, M.D., “The down-side of antibiotic use in pig production: The effect of antibiotic resistance of enteric bacteria”, In *Manipulating Pig Production*; Carnwell, P.D., Ed.; Australasian Pig Science Association: Victoria, Australia, V. 7, (1999).
15. Bampidis, V.A., Christodoulou, V., Christaki, E., Florou-Paneri, P. and Spais, A.B., “Effect of dietary garlic bulb and garlic husk supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs”, *Animal Feed Science and Technology*, V. 121, n°3-4, (June 2005), 273–283.
16. Botsoglou, N.A., Taitzoglou, I.A., Botsoglou, E., Zervos, I., Kokoli, A., Christaki, E. and Nikolaidis, E., “Effect of long-term dietary administration of oregano and rosemary on the antioxidant status of rat serum, liver, kidney and heart after carbon tetrachloride-induced oxidative stress”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 89, n° 8, (June 2009), 1397–1406.
17. Ocak, N., Erener, G., Burak, A.F., Sungu, M., Altop, A. and Ozmen, A., “Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint (*Mentha piperita* L.) or thyme (*Thymus vulgaris* L.) leaves as growth promoter source”, *Czech Journal of Animal Science*, V. 53, n°4, (April 2008), 169–175.
18. Kadri, A., Zarai, Z., Chobba, I.B., Bekir, A., Gharsallah, N., Damak, M. and Gdoura, R., “Chemical constituents and antioxidant properties of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil cultivated from South-Western Tunisia”, *Journal of Medicinal Plants Research*, V. 5, n° 29, (December 2011), 5999–6004.
19. Perumalla, A.V.S. and Hettiarachchy, N.S., “Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality”, *Food Research International*, V. 44, n°4, (May 2011), 827–839.

20. Negi, P.S., "Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application", *International Journal of Food Microbiology*, V. 156, n°1, (May 2012), 7–17.
21. Cowan, M.M., "Plant products as antimicrobial agents", *Clinical Microbiology Reviews*, V. 12, n°4, (October 1999), 564–582.
22. Tiwari, S., "Plants: A rich source of herbal medicine", *Journal of Natural Products*, V. 1, (2008), 27–35.
23. Madsen, H.L. and Bertelsen, G., "Spices as antioxidants", *Trends in Food Science & Technology*, V. 6, n°8, (August 1995), 271–277.
24. Duthie, G.G. and Brown, K.M., "Functional foods. In Reducing the Risk of Cardiovascular Disease", Goldberg, I., Ed.; Chapman & Hall: London, UK, (1994), pp. 19–38.
25. Milner, J.A., "Functional foods. In Reducing the Risk of Cancer", Goldberg, I., Ed.; Chapman & Hall: London, UK, (1994), pp. 39–70.
26. Couladis, M., Tzakou, O., Verykokidou, E. and Harvala, C., "Screening of some greek aromatic plants for antioxidant activity", *Phytotherapy Research*, V. 17, n°2, (February 2003), 194–195.
27. Duke, J., "Handbook of Medicinal Spices", CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2002.
28. Sherman, P.W. and Flaxman, S.M., "Protecting ourselves from food", *American Scientist*, V. 89, n°2, (2001), 142–151.
29. Elgayyar, M., Draughon, F.A., Golden, D.A. and Mount, J.R., "Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms", *Journal of Food Protection*, V. 64, n°7, (July 2001), 1019–1024.
30. Giannenas, I., "How to use plant extracts and phytochemicals in animal diets. In World Nutrition Forum, the Future of Animal Nutrition", Binder, E.M., Schatzmayr, G., Eds.; Nottingham University Press: Nottingham, UK, (2008), pp. 111–129.
31. Canter, P.H., Thomas, H. and Ernst, E., "Bringing medicinal plants into cultivation: opportunities and challenges for biotechnology", *Trends Biotechnology*, V. 23, n°4, (April 2005), 180–185.

32. Rao, S.R. and Ravishankar, G.A., "Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites", *Biotechnology Advances*, V. 20, n°2, (May 2002), 101-53.
33. Rodney, C., Kutchan, T.M. and Lewis N.G., "Natural Products. Biochemistry and molecular biology of plants", Buchanan B, Grissem W, Jones R. editors, (2000), p. 1253-348.
34. Hanson, J.R., "Natural products: the secondary metabolites", RSC, Cambridge, (2003).
35. Keeling, C.I. and Bohlmann, J., "Genes, enzymes, and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens", *New Phytologist*, V. 170, n°4, (June 2006), 657–675.
36. Caporale, L.H., "Chemical ecology: a view from the pharmaceutical industry", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, V. 92, n°1, (January 1995), 75–82.
37. Wink, M., "Introduction: biochemistry, role and biotechnology of secondary metabolites", In: Wink M (ed) *Functions of plant secondary metabolites and their exploitation in biotechnology*. Academic, Sheffield, UK, (1999).
38. Facchini, P.J., "Alkaloid biosynthesis in plants: biochemistry, cell biology, molecular regulation, and metabolic engineering applications", *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, V. 52, n°1, (June 2001), 29–66.
39. Verpoorte, R., van der Heijden, R. and Memelink, J., "Plant biotechnology and the production of alkaloids. Prospects of metabolic engineering", In: Cordell GA (ed) *The alkaloids: Chemistry and Biology*, V. 50. Academic, San Diego, (1999), 453-508.
40. Kutchan, T.M., "Alkaloid biosynthesis —the basis for metabolic engineering of medicinal plants", *The Plant Cell*, V. 7, n°7, (July 1995), 1059–1070.
41. Croteau, R., Kutchan, T.M. and Lewis, N.G., "Natural products (secondary metabolites)", In: Buchanan B, Grissem W, Jones R (eds) *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists, Rockville, (2000), pp 1250–1318.
42. Wallach, O., "Zur kenntnis der terpene und ätherischen Oele", *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, V. 238, n°1-2, (1887), 78-89.
43. Ruzicka, L., "The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds", *Experientia*, V. 9, n°10, (October 1953), 357-367.

44. Lynen, F., Eggerer, H., Henning, U. and Kessel, I., "Farnesyl-pyrophosphat und 3-Methyl-D3-butenyl-1-pyrophosphat, die biologischen vorstufen des squalens", *Angewandte Chemie*, V. 70, n°24, (December 1958), 738–742.
45. Bloch, K., Chaykin, S., Phillips, A.H. and de Waard, A., "Mevalonic acid pyrophosphate and isopentenylpyrophosphate", *Journal of Biological Chemistry*, V. 234, n°10, (October 1959), 2595–2604.
46. Tavormina, P.A., Gibbs, M.H. and Huff, J.W., "Utilization of  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methyl- $\delta$ -valerolactone in cholesterol biosynthesis", *Journal of the American Chemical Society*, V. 78, n°17, (September 1956), 4498–4499.
47. Breitmaier, E., "Terpenes: flavors, fragrances, pharmaca, pheromones", *Applied Organometallic Chemistry*, Wiley-VCH, V. 21, n°5, (May 2007), 377.
48. McGarvey, D.J. and Croteau, R., "Terpenoid metabolism", *The Plant Cell*, V.7, n°7, (July 1995), 1015–1026.
49. Langenheim, J.H., "Higher plant terpenoids: a phytocentric overview of their ecological roles", *Journal of Chemical Ecology*, V. 20, n°6, (June 1994), 1223–1280.
50. Stafford, H.A., "Flavonoid evolution: an enzymic approach", *Plant Physiology*, V. 96, n°3, (July 1991), 680–685.
51. Swain, T., "Evolution of flavonoid compounds", In: Harborne JB, Mabry TJ, Mabry H (eds) *The flavonoids*. Chapman & Hall, London, (1975), pp 1096–1138.
52. Harborne, J.B., "Plant phenolics", In: Bell EA, Charlwood BV (eds) *Encyclopedia of plant physiology*, V. 8, Secondary plant products. Springer, Berlin, (1980), pp 329–402.
53. Robards, R. and Antolovich, M., "Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. A review", *The Analyst*, V. 122, n°2, (1997), 11R–34R.
54. Herms, D.A. and Mattson, W.J., "The dilemma of plants: to grow or defend", *The Quarterly Review of Biology*, V. 67, n°3, (September 1992), 283–335.
55. Dixon, R.A. and Paiva, N.L., "Stress-induced phenylpropanoid metabolism", *The Plant Cell* V.7, n°7, (July 1995), 1085–1097.
56. Noel, J.P., Austin, M.B. and Bomati, E.K., "Structure–function relationships in plant phenylpropanoid biosynthesis", *Current Opinion in Plant Biology*, V.8, n°3, (June 2005), 249–253.

57. Boudet, A.M., "Evolution and current status of research in phenolic compounds", *Phytochemistry*, V. 68, n°22-24, (November 2007), 2722–2735.
58. Lowry, B., Lee, D. and Héban C., "The origin of land plants: a new look at an old problem", *Taxon*, V. 29, n°2-3, (May 1980), 183–197.
59. Graham, L.E., Cook, M.E. and Busse, J.S., "The origin of plants: body plan changes contributing to a major evolutionary radiation", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, V. 97, n°7, (April 2000), 4535–4540.
60. Chapman, D.J. and Regan, M.A., "Evolution of a biochemical pathway: evidence from comparative biochemistry", *Annual Review of Plant Physiology*, V. 31, n°1, (June 1980), 639–645.
61. Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S. and Y.K. Bansal, "Secondary Metabolites of Plants and their Role: Overview", *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, V. 9, n°3, (July 2015), 293-304.
62. Willstätter, R. and Everest, A.E., "Untersuchungen über die Anthocyane. I. Über den Farbstoff der Kornblume", *Justus Liebig's Annalen der Chemie*, V. 401, n°2, (1913), 189–232.
63. Robinson, G.M. and Robinson R., "A survey of anthocyanins I", *Biochemical Journal*, V. 25, n°5, (January 1931), 1687–1705.
64. Yoshida, K., Mori, M. and Kondo, T., "Blue flower color development by anthocyanins: from chemical structure to cell physiology", *Natural Product Reports*, V.26, n°7, (2009), 884–915.
65. Harborne, J.B., "General procedures and measurement of total phenolics", Harborne JB (ed) *Methods in plant biochemistry*, V.1, Plant phenolics. Academic, London, (1989), pp 1–28.
66. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouyseégu, L., "Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis", *Angewandte Chemie International Edition*, V. 50, n°3, (January 2011), 586–621.
67. Haslam, E., "Plant polyphenols: vegetable tannins revisited", *Chemistry and Pharmacology of Natural Products* (J. D. Phillipson, D. C. Ayres and H. Baxter, Eds), Cambridge University Press, Cambridge, (1989), pp.230.

68. Strack, D., "Phenolic metabolism", In: Dey PM, Harborne JB (eds) *Plant biochemistry*. Academic, London, (1997), pp 387–416.
69. Whiting, D.A., "Natural phenolic compounds 1900–2000: a bird's eye view of a century's chemistry", *Natural Product Reports*, V. 18, n°6, (December 2001), 583–606.
70. Andersen, O.M. and Markham, K.R., "Flavonoids – chemistry, biochemistry and applications", CRC Taylor & Francis, Boca Raton, (2006), pp.1256.
71. Vermerris, W. and Nicholson, R., "Phenolic compound biochemistry", Springer Science, (2006), pp 2-34.
72. Quideau, S., "Chemistry and biology of ellagitannins, an underestimated class of bioactive plant polyphenols", World Scientific, London, (January 2009), pp.19.
73. Jaganath, I.B. and Crozier, A., "Dietary flavonoids and phenolic compounds", In: Cesar Fraga G (ed) *Plant phenolics and human health: biochemistry, nutrition, and pharmacology*. Wiley, Hoboken, (2010), pp 1–49.
74. Veitch, N.C., "Flavonoid chemistry of the Leguminosae", In: Santos-Buelga C, EscribanoBailon MT, Lattanzio V (eds) *Recent advances in polyphenol research, vol II*. WileyBlackwell, Oxford, UK, (2010), pp 23–58.
75. Veitch, N.C. and Grayer, R.J., "Flavonoids and their glycosides, including anthocyanins", *Natural Product Reports*, V. 25, n°3, (April 2011), 555-611.
76. Shahidi, F., and Naczk, M., "Phenolics in food and nutraceuticals", Boca Raton, FL: CRC Press., (July 2004), 1–558.
77. Liu, J., Du, C. and Beaman, H.T., "Monroe, M.B.B. Characterization of Phenolic Acid Antimicrobial and Antioxidant Structure–Property Relationships", *Pharmaceutics*, V.12, n°5, (May 2020), 419.
78. Liu, R. H., "Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action," *Journal of Nutrition*, V. 134, n°12, (December 2004), 3479-3485.
79. Syngletary, K. W., Jackson, S. J., and Milner, J. A., "Non-nutritive components in foods as modifiers of the cancer process" *Preventive Nutrition: the Comprehensive Guide for Health Professionals*, A. Bendich and R. J. Deckelbaum, Ed., 3rd ed. Totowa, N.J.: Humana Press, (2005), pp. 55-88.

80. Percival, S.S., Talcott, S.T., Chin, S.T., Mallak, A.C., Lound-Singleton, A., and Pettit-Moore, J., "Neoplastic transformation of BALB/3T3 cells and cell cycle of HL-60 cells are inhibited by mango (*Mangifera indica* L.) Juice and mango juice extract", *Journal of Nutrition*, V. 136, n°5, (May 2006), 1300-1304.
81. Yahia, E.M., "The contribution of fruit and vegetable consumption to human health," in *Phytochemical: Chemistry, Nutritional and Stability*, Wiley- Blackwell, Ch. 1, (2009), pp. 3-51.
82. Duthie, G.G., Duthie, S.J., and Kyle, J.A.M., "Plant polyphenols in cancer and heart disease: implications as nutritional antioxidants", *Nutrition Research Review*, V. 13, n°1, (June 2000), 79-106.
83. Escarpa, A., and Gonzalez, M.C., "An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods", *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, V. 31, n°2, (April 2001), 57-139.
84. Pinto, G., and Pollio, A., "Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties," *Molecules*, V. 16, n°2, (February 2011), 1486-1507.
85. Jaffery, E.H., Brown, A.F., Kurilich, A.C., Keek, A.S., Matusheski, N., and Klein, B.P., "Variation in content of bioactive components in broccoli", *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 16, n°3, (June 2003), 323-330.
86. Haminiuk, Charles W. I., Giselle M. Maciel, Manuel S. V. Plata-Oviedo, and Rosane M. Peralta., "Phenolic Compounds in Fruits - an Overview", *International Journal of Food Science & Technology*, V. 47, n°10, (July 4, 2012), 2023–2044.
87. Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S., "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses", *Food Chemistry*, V. 99, n°1, (January 2006), 191-203.
88. Gonthier, M.P., Remesy, C., Scalbert, A., Cheynier, V., Souquet, J.M., Poutanen, K., and Aura, A.M., "Microbial metabolism of caffeic acid and its esters chlorogenic and caftaric acids by human faecal microbiota *in vitro*", *Biomedicine & Pharmacotherapy*, V. 60, n°9, (November 2006), 536-540.
89. Rice-Evans, C.A., Miller, N.J., and Paganga, G., "Antioxidant properties of phenolic compounds", *Trends in Plant Science*, V. 2, n°4, (April 1997), 152-159.

90. Henning, S.M., Niu, Y., Liu, Y., Lee, N.H., Hara, Y., Thames, G.D., Minutti, R.R., Carpenter, C.L., Wang, H., and Heber, D., "Bioavailability and antioxidant effect of epigallocatechin gallate administered in purified form versus as green tea extract in healthy individuals", *Journal of Nutrition Biochemistry*, V. 16, n°10, (October 2005), 610-616.
91. Lotito, S.B. and Frei, B., "Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: Cause, consequence, or epiphenomenon?", *Free Radical Biology and Medicine*, V. 41, n° 12, (December 2006), 1727-1746.
92. Rangkadilok, N., Sitthimonchai, S., Worasuttayangkurn, L., Mahidol, C., Ruchirawat, M. and Satayavivad, J., "Evaluation of free radical scavenging and antityrosinase activities of standardized longan fruit extract", *Food and Chemical Toxicology*, V. 45, n°2, (February 2007), 328-336.
93. Han, X., Shen, T. and Lou, H., "Dietary polyphenols and their biological significance," *International Journal Molecular Sciences*, V. 8, n°9, (September 2007), 950-988.
94. Cassidy, A., Hanley, B. and Lamuela-Raventos, R.M., "Isoflavone, lignans and stilbenes-origins, metabolism and potential importance to human health", *Journal of the Science and Food Agriculture*, V. 80, n°7, (May 2000), 1044-1062.
95. EFSA, "Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxyanisole–BHA (E 320) as a food additive", *EFSA Journal*, V. 9, n° 10, (2011), 2392.
96. EFSA, "Panel on food additives and nutrient sources added to food (ANS); Scientific opinion on the reevaluation of butylated hydroxytoluene BHT (E 321) as a food additive", *EFSA Journal*, V. 10, n° 3, (2012), 2588.
97. EFSA, "Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to tertiary-butylhydroquinone (TBHQ)", *EFSA Journal*, V. 84, (2004), 1–50.
98. Joung, T., Nihei, K. and Kubo, I. "Lipoxygenase inhibitory activity of octyl gallate", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 52, n°10, (May 2004), 3177–3181.
99. Evan, A.P. and Gardner, K.D. "Nephron obstruction in nordihydroguaiaretic acid-induced renal cystic disease", *Kidney International*, V. 15, n°1, (January 1979), 7–19.
100. Xu, G., Ye, X., Liu, D., Ma, Y., and Chen, J. "Composition and distribution of phenolic acids in Ponkan (*Citrus poonensis* Hort. ex Tanaka) and Huyou (*Citrus paradisi*

- Macf. Changshanhuoyou) during maturity”, *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 21, n°5, (August 2008), 382–389.
101. Mattila, P. and Hellström, J., “Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products”, *Journal of Food Composition and Analysis*, V.20, n°3-4, (May 2007), 152–160.
102. Hoffmann, L., “Etude du métabolisme des phénylpropanoïdes; analyse de l’interaction de la caféoyl-coenzyme A 3-O-méthyltransférase (CCoAOMT) avec son substrat et caractérisation fonctionnelle d’une nouvelle acyltransférase, l’HydroxyCinnamoyl-CoA : shikimate/quinate hydroxycinnamoyl Transférase (HCT)”, *Biologie cellulaire. Université Louis Pasteur - Strasbourg I*, (October 2003), pp.289.
103. Amarowicz, R., Carle, R., Dongowski, G., Durazzo, A., Galensa, R., Kammerer, D., Maiani, G. and Piskula, M. K., “Influence of postharvest processing and storage on the content of phenolic acids and flavonoids in foods”, *Molecular Nutrition & Food Research*, V. 53, n°S2, (September 2009), S151–S183.
104. Amarowicz, R., Zegarska, Z., Rafalowski, R., Pegg, R. B., Karamac, M. and Kosinska, A., “Antioxidant activity and free radical-scavenging capacity of ethanolic extracts of thyme, oregano, and marjoram”, *European Journal of Lipid Science and Technology*, V. 111, n°11, (November 2009), 1111-1117.
105. Shahidi, F., “Antioxidants: Principles and applications”, In F. Shahidi (Ed.), *Handbook of antioxidants for food preservation*, Cambridge, UK: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition ,(2015), 1-14.
106. Herrmann, K. and Nagel, C.W., “Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods”, *CRC Critical Review in Food Science and Nutrition*, V. 28, n°4, (January 1989), 315-347.
107. Shahidi, F. and Chandrasekara, A., “Hydroxycinnamates and their in vitro and in vivo antioxidant activities”, *Phytochemistry Review*, V. 9, n°1, (March 2010), 147-170.
108. Shahidi, F., McDonald, J., Chandrasekara, A. and Zhong, Y., “Phytochemicals of foods, beverages and fruit vinegars: Chemistry and health effects”, *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, V. 17, (October 2008), 380-382.

109. Yeo, J. and Shahidi, F., "A critical evaluation of changes in the ratio of insoluble-bound to soluble phenolics on antioxidant activity of lentils during germination", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 63, n°2, (January 2015), 379-381.
110. Shahidi, F. and Wanasundara, J.P.D., "Phenolic antioxidants", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, V. 32, n°1, (January 1992), 67-103.
111. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G., "Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids", *Free Radical Biology and Medicine*, V. 20, n°7, (January 1996), 933-956.
112. Robbins, R.J., "Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 51, n°10, (May 2003), 2866-2887.
113. Clifford, M.N., "Chlorogenic acids and other cinnamates – Nature, occurrence, and dietary burden", *Journal of Science and Food Agriculture*, V.79, n°3, (March 1999), 362-372.
114. Koshihara, Y., Neichi, T., Murota, S.I., Lao, A. N., Fujimoto, Y. and Tatsuno, T., "Caffeic acid is a selective inhibitor for leukotriene biosynthesis", *Biochimica et Biophysica Acta*, V. 792, n°1, (January 1984), 92-97.
115. Olthof, M.R., Hollman, P.C.H. and Katan, M., "Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans", *The Journal of Nutrition*, V. 131, n°1, (January 2001), 66–71.
116. Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S. and Hansen, A., "Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in rye (*Secale cereale* L.) varieties", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 48, n°7, (July 2000), 2837-2842.
117. Hartley, R.D., Jones, E.C. and Wood, T.M., "Carbohydrates and carbohydrate esters of ferulic acid released from cell walls of *lolium multiflorum* by treatment with cellulolytic enzymes", *Phytochemistry*, V. 15, n°2, (January 1976), 305-307.
118. Brett, C. and Waldron, K., "Cell wall architecture and the skeletal role of the wall", In: Brett C, Waldron K (eds) *Physiology and biochemistry of plant cell walls*. Chapman and Hall, London, (1990), pp 4–57.
119. Lam, T.B.T., Kadoya, K. and Liyama, K., "Bonding of hydroxycinnamic acids to lignin: ferulic and p-coumaric acids are predominantly linked at the benzyl position of lignin, not the  $\alpha$ -position, in grass cell walls", *Phytochemistry*, V. 57, n°6, (July 2001), 987-992.

120. Klick, S. and Herrmann, K., "Glucosides and glucose esters of hydroxybenzoic acids in plants", *Phytochemistry*, V. 27, n°7, (January 1988), 2177-2180.
121. Amiot, M.J., Fleuriet, A., Cheynier, V. and Nicolas, J., "Phenolic compounds and oxidative mechanisms in fruit and vegetables, in *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*", Proceedings of the Phytochemical Society of Europe, Tomás-Barberán, F.A. and Robins, R.J., Eds., Clarendon Press, Oxford, U.K., (1997), 51–86.
122. Verpoorte, R., Contin, A. and Memelink, J., "Biotechnology for the production of plant secondary metabolites", *Phytochemistry Reviews*, V. 1, n°1, (January 2002), 13-25.
123. Pomponio, R., Gotti, R., Hudaib, M. and Cavrini, V., "Analysis of phenolic acids by micellar electrokinetic chromatography: application to *Echinacea purpurea* plant extracts", *Journal of Chromatography A*, V. 945, n°1-2, (February 2002), 239-247.
124. Naczki, M. and Shahidi F., "Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 41, n°5, (August 2006), 1523-1542.
125. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. and Jiménez, L., "Polyphenols: food sources and bioavailability", *The American Journal of Clinical Nutrition*, V.79, n°5, (May 2004), 727-747.
126. Li, Z-H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C-D. and Jiang, D-A., "Phenolics and plant allelopathy", *Molecules*, V. 15, n°12, (December 2010), 8933-8952.
127. Zheng, W. and Wang, S. Y., "Effect of plant growth temperature on antioxidant capacity in strawberry", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n°10, (October 2001), 4977-4982.
128. Carlsen, S.C., Kudsk, P., Laursen, B., Mathiassen, S.K., Mortensen, A.G. and Fomsgaard, I.S., "Allelochemicals in rye (*Secale cereale* L.): cultivar and tissue differences in the production of benzoxazinoids and phenolic acids", *Natural Product Communications*, V. 4, n°2, (February 2009), 199-208.
129. Zgórká, G. and Kawka, S., "Application of conventional UV, photodiode array (PDA) and fluorescence (FL) detection to analysis of phenolic acids in plant material and pharmaceutical preparations", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 24, n°5-6, (March 2001), 1065-1072.

130. Atoui, A.K., Mansouri, A., Boskou, G. and Kefalas, P., "Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic profile", *Food Chemistry*, V. 89, n°1, (January 2005), 27-36.
131. Robbins, R. and Bean, S.R., "Development of a quantitative high-performance liquid chromatography-photodiode array detection measurement system for phenolic acids", *Journal of Chromatography A*, V. 1038, n°1-2, (June 2004), 97-105.
132. Zheng, W. and Wang, S., "Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n°11, (November 2001), 5165-5170.
133. Slavin, J., Marquart, L. and Jacobs, D., "Consumption of whole-grain food and decreased risk of cancer: proposed mechanisms", *Cereal Foods Worlds*, V. 45, n° 2, (February 2000), 54-58.
134. Weng, C.J. and Yen, G.C., "Chemopreventive effects of dietary phytochemicals against cancer invasion and metastasis: phenolic acids, monophenol, polyphenol, and their derivatives", *Cancer Treatment Reviews*, V. 38, n°1, (February 2012), 76-87.
135. Huang, L., Lin, C., Li, A., Wei, B., Teng, J. and Li, L., "Pro-coagulant activity of phenolic acids isolated from *Blumea riparia*", *Natural Product Communications*, V. 5, n°8, (August 2010), 1263-1266.
136. Xu, M., Han, J., Li, H.F., Fan, L., Liu, A.H. and Guo, D.A., "Analysis on the stability of total phenolic acids and salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* by HPLC and HPLC-MSn", *Natural Product Communications*, V. 3, n°5, (May 2008), 669-676.
137. Lafay, S. and Gil-Izquierdo, A., "Bioavailability of phenolic acids", *Phytochemistry Reviews*, V. 7, n°2, (July 2008), 301-311.
138. Smith, B.C., "Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy", CRC Press, V. 9, (March 2011), 147-157.
139. Smith, B.C., "Quantitative Spectroscopy: Theory and Practice", ACADEMIC Press; V. 18, (2002), 1-85.
140. OIV, 2002 – Recommandations harmonisées pour le contrôle interne de qualité dans les laboratoires d'analyse ; OIV résolution œnologie 19/2002., Paris.
141. Recueil des méthodes internationale d'analyses – OIV Guide de validation – Contrôle qualité OIV-MA-AS1-12 : R2005. Guide pratique pour la validation, le contrôle qualité, et

l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse œnologique alternative (Résolution Oeno 10/2005)

142. Cox, D.R., "Regression models and life tables", *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, V. 34, n° 2, (January 1972), 187–220.

143. Wold, S., Martens, H. and Wold, H., "The multivariate calibration problem in chemistry solved by the PLS method", In *Proc. Conf. Matrix Pencils*, Ruhe A., Kåstrøm B. (Eds), March 1982, *Lecture Notes in Mathematics*, Springer Verlag, Heidelberg, (1983), 286–293.

144. Tenenhaus, M., "La régression PLS", *Edition Technip*, Paris, (1998), pp.264.

145. Garthwaite, P.H., "An interpretation of partial least squares", *Journal of the American Statistical Association*, V. 89, n° 425, (March 1994), 122–127.

146. Tenenhaus, M., "La régression logistique PLS", in *Proceedings of the 32èmes journées de Statistique de la Société française de Statistique*, FES, (1999), 721–723.

147. Wold, H., "Estimation of principal components and related models by iterative least squares", in: P.R. Krishainaah (Ed.), *Multivariate Analysis*. New Academic Press, New York, (1966), pp. 391–420.

148. Esposito Vinzi, V. and Tenenhaus, M., "PLS logistic regression", in: *CISIA-CERESTA (Ed.), PLS and Related Methods, Proceedings of the PLS'01 International Symposium*, (2001), pp. 117–130.

149. Bastien, P. and Tenenhaus, M., "PLS generalised linear regression, application to the analysis of life time data", in: *CISIA-CERESTA (Ed.), PLS and Related Methods, Proceedings of the PLS'01 International Symposium*, (2001), pp. 131–140.

150. Bastien, P., Esposito Vinzi, V. and Tenenhaus, M., "PLS generalised linear regression", *Computational Statistics & Data Analysis*, V. 48, n°1, (January 2005), 17–46.

151. Bastien, P., "PLS–Cox model: application to gene expression data", *Proceedings COMPSTAT'04*, Springer: Physica-Verlag, (2004), pp. 655–662.

152. Rännar, S., Lindgren, F., Geladi, P. and Wold, S., "A PLS kernel algorithm for data sets with many variables and fewer objects. Part I: Theory and Algorithm", *Journal of Chemometrics*, V. 8, n°2, (March 1994), 111–125.

153. Lindgren, F., Geladi, P. and Wold, S., "The kernel algorithm for PLS", *Journal of Chemometrics*, V. 7, n°1, (January 1993), 45–59.

154. Gallart-Mateu, D., Cervera, M.L., Armenta, S. and de la Guardia, M., "The importance of incorporating a waste detoxification step in analytical methodologies", *Analytical Methods*, Royal Society of Chemistry (RSC); V. 7, n°13, (May 2015), 5702–6.
155. Gałuszka, A., Migaszewski, Z.M., Konieczka, P. and Namieśnik, J., "Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, V. 37, (July 2012), 61–72.
156. O’Neil, M.J., "The Merck Index, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals", 13<sup>th</sup> Edition, Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., (2001).
157. Yalkowsky, S.H. and He, Y., "Handbook of Aqueous Solubility Data: An Extensive Compilation of Aqueous Solubility Data for Organic Compounds Extracted from the AQUASOL database", CRC Press LLC, Boca Raton, FL., (2003).
158. Gerhartz, W., "Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry", 5<sup>th</sup> ed. V. A1: Deerfield Beach, FL: VCH Publishers, p. VA13:521, (1989).
159. Bouillot, B., Teychené, S. and Biscans, B., "An Evaluation of COSMO-SAC Model and Its Evolutions for the Prediction of Drug-Like Molecule Solubility: Part 1", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, V. 52, n°26, (July 2013), 9276-9284.
160. Bouillot, B., Teychené, S. and Biscans, B., "Discussion and Improvement of the Refined COSMO-SAC Parameters for Solubility Predictions: Part 2", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, V. 52, n°26, (July 2013), 9285-9294.
161. Fakhree, M.A.A., Ahmadian, S., Panahi-Azar, V., Acree, W.E. and Jouyban, A., "Solubility of 2-Hydroxybenzoic Acid in Water, 1-Propanol, 2-Propanol, and 2-Propanone at (298.2 to 338.2) K and Their Aqueous Binary Mixtures at 298.2 K", *Journal of Chemical & Engineering Data*, V. 57, n°11, (November 2012), 3303-3307.
162. Nordström, F.L. and Åke, C., "Rasmuson. Solubility and Melting Properties of Salicylic Acid", *Journal of Chemical & Engineering Data*, V. 51, n°5, (September 2006), 1668-1671.
163. Lazzaroni, M.J., Bush, D., Eckert, C.A., Frank, T.C., Gupta, S. and Olson, J.D., "Revision of MOSCED Parameters and Extension to Solid Solubility Calculations", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, V. 44, n°11, (May 2005), 4075-4083.

164. Abildskov, J. and O'Connell, J.P., "Predicting the Solubilities of Complex Chemicals I. Solutes in Different Solvents", *Industrial & Engineering Chemistry Research*, V. 42, n°22, (October 2003), 5622-5634.
165. Sedov, I.A., Magsumov, T.I., Hart, E., Higgins, E., Grover, D., Zettl, H., Zad, M. and Acree, W.E. and Abraham M.H., "Model Expressions for Describing Water-to-Diethylene Glycol and Gas-to-Diethylene Glycol Solute Transfer Processes at 298.15 K", *Journal of Solution Chemistry*, V. 46, n° 2, (February 2017), 331-351.
166. Alantary, D. and Yalkowsky, S., "Calculating the Solubilities of Drugs and Drug-Like Compounds in Octanol", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, V. 105, n° 9, (September 2016), 2770-2773.
167. Sedov, I.A., Khaibrakhmanova, D., Hart, E., Grover, D., Zettl, H., Koshevarova, V., Dai, C., Zhang, S., Schmidt, A., Acree, W.E. and Abraham; M.H., "Development of model correlations for solute transfer into both 2-propoxyethanol and 2-isopropoxyethanol at 298.15 K", *Journal of Molecular Liquids*, V. 212, (December 2015), 833-840.
168. Sedov, I.A., Stolov, M.A., Hart, E., Grover, D., Zettl, H., Koshevarova, V., Dai, C., Zhang, S., Acree, W.E. and Abraham, M.H., "Model correlations for describing solute transfer into 2-butoxyethanol from both water and the gas phase at 298K", *Journal of Molecular Liquids*, V. 209, (September 2015), 196-202.
169. Hart, E., Grover, D., Zettl, H., Koshevarova, V., Zhang, S., Dai, C., Acree, W.E., Sedov, I.A., Stolov, M.A. and Abraham, M.H., "Model correlations for solute transfer into 2-methoxyethanol from water and from the gas phase", *Journal of Molecular Liquids*, V. 209, (September 2015), 738-744.
170. Loschen, C. and Klamt, A., "Solubility prediction, solvate and cocrystal screening as tools for rational crystal engineering", *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, V. 67, n° 6, (May 2015), 803-811.
171. Acree, W.E.Jr., "IUPAC-NIST Solubility Data Series. 99. Solubility of Benzoic Acid and Substituted Benzoic Acids in Both Neat Organic Solvents and Organic Solvent Mixtures", *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, V. 42, n° 3, (January 2013), 033103.

172. Lim, J., Jang, S., Cho, H.K., Shin, M.S. and Kim, H., "Solubility of salicylic acid in pure alcohols at different temperatures", *The Journal of Chemical Thermodynamics*, V. 57, (February 2013), 295-300.
173. Mota, F.L., Queimada, A.J., Andreatta, A.E., Pinho, S.P. and Macedo, E.A., "Calculation of drug-like molecules solubility using predictive activity coefficient models", *Fluid Phase Equilibria*, V. 322-323, (May 2012), 48-55.
174. Bouillot, B., Teychené, S. and Biscans, B., "An evaluation of thermodynamic models for the prediction of drug and drug-like molecule solubility in organic solvents", *Fluid Phase Equilibria*, V. 309, n° 1, (October 2011), 36-52.
175. Goto, A., Miyamoto, H., Salomon, M., Goto, R., Fukuda, H., Königsberger, E., Königsberger, L.C. and Scharlin, P., "IUPAC-NIST Solubility Data Series. 90. Hydroxybenzoic Acid Derivatives in Binary and Ternary Systems. Part II. Hydroxybenzoic Acids, Hydroxybenzoates, and Hydroxybenzoic Acid Salts in Nonaqueous Systems", *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, V. 40, n° 2, (June 2011), 023102.
176. Sprunger, L.M., Achi, S.S., Pointer, R., Acree, W.E. and Abraham, M.H., "Development of model correlations for solvation characteristics of secondary and branched alcohols", *Fluid Phase Equilibria*, 288, n° 1-2, (January 2010), 121-127.
177. Jouyban A., "Solubility Data in Organic Solvents", *Handbook of Solubility Data for Pharmaceuticals*, CRC Press, V. 26, (2009), 69–202.
178. Abraham, M.H., Acree, W.E., Leo and A.J., Hoekman, D., "The partition of compounds from water and from air into wet and dry ketones", *New Journal of Chemistry*, V. 33, n° 3, (January 2009), 568-573.
179. Sprunger, L.M., Proctor, A., Acree, W.E., Abraham, M.H. and Benjelloun-Dakhama N., "Correlation and prediction of partition coefficient between the gas phase and water, and the solvents dry methyl acetate, dry and wet ethyl acetate, and dry and wet butyl acetate", *Fluid Phase Equilibria*, V. 270, n° 1-2, (August 2008), 30-44.
180. Daniels, C.R., Charlton, A.K., Wold, R.M., Pustejovsky, E., Furman, A.N., Bilbrey, A.C., Love, J.N., Garza, J.A. and Acree, W.E., "Solubility of benzoic acid in select organic solvents at 298.15 K", *Physics and Chemistry of Liquids*, V. 41, n° 6, (December 2003), 599-603.

181. Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K. and Ryan, D., "Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits", *The Analyst*. Royal Society of Chemistry (RSC), V. 125, n° 5, (April 2000), 989–1009.
182. Kozłowska, H., Rotkiewicz, D.A., Zadernowski, R. and Sosulski, F.W., "Phenolic acids in rapeseed and mustard", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Wiley, V. 60, n° 6, (June 1983), 1119–23.
183. Luthria, D.L. and Mukhopadhyay, S., "Influence of Sample Preparation on Assay of Phenolic Acids from Eggplant", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society (ACS), V. 54, n° 1, (January 2006), 41–7.
184. Naczki, M., Shahidi, F. and Sullivan, A., "Recovery of rapeseed tannins by various solvent systems", *Food Chemistry*. Elsevier BV, V. 45, n° 1, (1992), 51–4.
185. Robards, K., "Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables", *Journal of Chromatography A*. Elsevier BV, V. 1000, n°1-2, (June 2003), 657–91.
186. Zadernowski, R., Naczki, M. and Nesterowicz, J., "Phenolic Acid Profiles in Some Small Berries", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society (ACS), V. 53, n° 6, (March 2005), 2118–24.
187. Hinneburg, I. and Neubert, R.H.H., "Influence of Extraction Parameters on the Phytochemical Characteristics of Extracts from Buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) Herb", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. American Chemical Society (ACS), V. 53, n° 1, (January 2005), 3–7.
188. Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I., "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables", *Food Chemistry*. Elsevier BV, V. 126, n° 4, (June 2011), 1821–35.
189. Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., Nunez, M.J. and Nicoli, M.C., "Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* byproducts", *Food Chemistry*, V. 92, n° 1, (August 2005), 109–117.
190. Russell, W. R., Scobbie L., Labat, A., Duncan, G. J. and Duthie, G. G., "Phenolic acid content of fruits commonly consumed and locally produced in Scotland", *Food Chemistry*, V. 115, n° 1, (July 2009), 100-104.

191. Bleve, M., Ciurlia, L., Erroi, E., Lionetto, G., Longoc, L., Rescioa, L., Schettino, T. and Vasapoll, G., “An innovative method for the purification of anthocyanins from grape skin extracts by using liquid and sub-critical carbon dioxide”, *Separation and Purification Technology*, V. 64, n°2, (December 2008), 192–197.
192. Caridi, D., Trenerry, V.C., Rochfort, S., Duong, S., Laughler, D. and Jones, R., “Profiling and quantifying quercetin glucosides in onion (*Allium cepa* L.) varieties using capillary zone electrophoresis and high performance liquid chromatography”, *Food Chemistry*, V. 105, n°2, (2007), 691–699.
193. Ross, K.A., Beta, T. and Arntfield, S.D., “A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods”, *Food Chemistry*, V. 113, n°1, (March 2009), 336–344.
194. Mattila, P. and Kumpulainen, J.J., “Determination of free and total phenolic acids in plant derived foods by HPLC and diode array detection”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, n°13, (June 2002), 3660–3667.
195. Altioik, E., Baycin, D., Bayraktar, O. and Ulku S., “Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin”, *Separation and Purification Technology*, V. 62, n°2, (September 2008), 342–348.
196. Balas, A. and Popa, V.I., “Bioactive aromatic compounds – The influences of natural aromatic compounds on the development of *Lycopersicon esculentum* plantlets”, *BioResources*, V. 2, n° 3, (March 2007), 363–370.
197. Wang, Z.-H., Hsu, C.-C. and Yin, M.-C., “Antioxidative characteristics of aqueous and ethanol extracts of glossy privet fruit”, *Food Chemistry*, V. 112, n° 4, (February 2009), 914–918.
198. Bucic-Kojic, A., Planinic, M., Tomas, S., Bilic, M. and Velic, D., “Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds”, *Journal of Food Engineering*, V. 81, n° 1, (July 2007), 236–242.
199. Corrales, M., Fernandez Garcia, A., Butz, P. and Tauscher, B., “Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure”, *Journal of Food Engineering*, V. 90, n° 4, (February 2009), 415–421.

200. Sharififar, F., Dehghn-Nudeh, G. and Mirtajaldini, M., "Major flavonoids with antioxidant activity from *Teucrium polium* L.", *Food Chemistry*, V. 112, n° 4, (February 2009), 885–888.
201. Diouf, P.N., Stevanovic, T. and Cloutier, A., "Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Picea mariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions", *Food Chemistry*, V. 113, n° 4, (April 2009), 897–902.
202. Nardini, M., Cirilo, E., Natella, F., Mencarelli, D., Comisso, A. and Scaccini, C., "Detection of bound phenolic acids: Prevention by ascorbic acid and ethylenediaminetetraacetic acid", *Food Chemistry*, V. 79, n° 1, (October 2002), 119–124.
203. Popa, V.I., Dumitru, M., Volf, I. and Anghel, N., "Lignin and polyphenols as Allelochemicals", *Industrial Crops and Products*, V. 27, n° 2, (March 2008), 144–149.
204. Zhang, Z., Liao, L., Moore, J., Wua, T. and Wang, Z., "Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.)", *Food Chemistry*, V. 113, n° 1, (March 2009), 160–165.
205. Naczki, M. and Shahidi, F., "Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 41, n° 5, (August 2006), 1523–1542.
206. Schieber, A., Hilt, P., Streker, P., Endreb, H.U., Rentschler, C. and Carle, R., "A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, V. 4, n° 1, (March 2003), 99–107.
207. Alonso García, A., Cancho Grande, B., Simal & Gandara, J., "Development of a rapid method based on solid-phase extraction and liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection for the determination of polyphenols in alcohol-free beers", *Journal of Chromatography A*, V. 1054, n° 1-2, (October 2004), 175–180.
208. Rodríguez-Arcos, R.C., Smith, A.C. and Waldron, K.W., "Ferulic Acid Crosslinks in Asparagus Cell Walls in Relation to Texture", *Journal of Agricultural and Food Chemistry American Chemical Society (ACS)*, V. 52, n°15, (July 2004), 4740–50.
209. Rodríguez-Arcos, R.C., Smith, A.C. and Waldron K.W., "Effect of Storage on Wall-Bound Phenolics in Green Asparagus", *Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society (ACS)*, V. 50, n°11, (May 2002), 3197–203.

210. Yu, J., Vasanthan, T. and Temelli, F., "Analysis of Phenolic Acids in Barley by High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society (ACS), V. 49, n° 9, (September 2001), 4352–8.
211. Zupfer, J.M., Churchill, K.E., Rasmusson, D.C. and Fulcher, R.G., "Variation in Ferulic Acid Concentration among Diverse Barley Cultivars Measured by HPLC and Microspectrophotometry", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society (ACS), V. 46, n° 4, (April 1998), 1350–4.
212. Bartolomé, B. and Gómez-Cordovés, C., "Barley spent grain: release of hydroxycinnamic acids (ferulic and *p*-coumaric acids) by commercial enzyme preparations", *J. Sci. Food Agric.*, V. 79, n°3, (March 1999), 435-439.
213. Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S. and Hansen, Æ., "Ferulic Acid Dehydrodimers in Rye(*Secale cereale* L.)", *Journal of Cereal Science*, V. 31, n° 3, (May 2000), 303-307.
214. Price M.L. and Butler L.G., "Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, American Chemical Society (ACS), V. 25, n° 6, (November 1977), 1268–73.
215. Burns R.E., "Method for Estimation of Tannin in Grain Sorghum", *Agronomy Journal*, V. 63, n° 3, (May 1971), 511–2.
216. Maxon, E.D. and Rooney, L.W., "Evaluation of methods for tannins analysis in sorghum grain", *Cereal Chemistry*, (November 1972), V.49, 719-729.
217. Khanna, S.K., Viswanathan, P.N., Krishnan, P.S. and Sanwal, G.G., "Extraction of total phenolics in the presence of reducing agents", *Phytochemistry*, (September 1968), V. 7, n° 9, 1513–7.
218. Naczek, M. and Shahidi, M.F., "Critical evaluation of quantification methods of rapeseed tannins", Presented at Eighth International Rapeseed Congress, Posters-IV pp 1385-1390, Saskatoon, SK, Canada, (July 1991), 9–11.
219. DESHPANDE, S.S. and CHERYAN, M., "Evaluation of Vanillin Assay for Tannin Analysis of Dry Beans", *Journal of Food Science*, V. 50, n° 4, (July 1985), 905–10.
220. Krygier, K., Sosulski, F. and Hogge, L., "Free, esterified, and insoluble-bound phenolic acids. 1. Extraction and purification procedure", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 30, n° 2, (March 1982), 330–4.

221. Nardini, M., Cirillo, E., Natella, F., Mencarelli, D., Comisso, A. and Scaccini, C., "Detection of bound phenolic acids: prevention by ascorbic acid and ethylenediaminetetraacetic acid of degradation of phenolic acids during alkaline hydrolysis", *Food Chemistry*, V. 79, n° 1, (October 2002), 119–124.
222. Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L. et al. « Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*», *Journal of Food and Drug Analysis*, V. 22, n° 3, (September 2014), 296-302.
223. Alu'datt, M.H., Rababah, T., Alhamad, M.N. et al. "A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds", *Food Chemistry*, V. 218, (March 2017), 99-106.
224. Angerosa, F., d'Alessandro, N., Konstantinou, P. and Di Giacinto, L., "GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 43, n° 7, (July 1995), 1802-1807.
225. Liggins, J., Bluck, L.J.C., Runswick, S., Atkinson, C., Coward, W.A. and Bingham, S.A., "Daidzein and genistein content of fruits and nuts", *The Journal of Nutritional Biochemistry*, V. 11, n° 6, (June 2000), 326-331.
226. Nuchuchua, O., Saesoo, S., Sramala, I., Puttipipatkachorn, S., Soottitantawat, A. and Ruktanonchai, U., "Physicochemical investigation and molecular modeling of cyclodextrin complexation mechanism with eugenol", *Food Research International*, V. 42, N° 8, (October 2009), 1178-1185.
227. Alara O.R., Abdurahman N.H. and Ukaegbu C.I., "Extraction of phenolic compounds: A review", *Current Research in Food Science*, V. 4, (2021), 200-214.
228. Mikolajczak N., Tanska M. and Ogrodowska D., "Phenolic compounds in plant oils: A review of composition, analytical methods, and effect on oxidative stability", *Trends in Food Science and Technology*, V. 113, (July 2021), 110-138.
229. Cert A., Moreda W. and Perez-Camino M.C., "Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils", *Journal of Chromatography A*, V. 881, n° 1-2, (June 2000), 131-148.
230. Bettaiah, A. and Prabhushankar, H.B., "Screening of Novel Source for Genistein by Rapid and Sensitive UPLC-APCI-TOF Mass Spectrometry", *International Journal of Food Science*, (March 2021), 1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2021/5537917>

231. Swanson C.A., "Suggested guidelines for articles about botanical dietary supplements", *The American Journal of Clinical Nutrition*, V. 75, n° 1, (January 2002), 8–10.
232. Angerosa, F., d' Alessandro, N., Konstantinou, P. and Di Giacinto, L., "GC-MS Evaluation of Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 43, n° 7, (July 1995), 1802–7.
233. Pirisi, F.M., Angioni, A., Cabras, P., Garau, V.L., di Teulada, M.T.S., dos Santos, M.K. et al. "Phenolic compounds in virgin olive oils I. Low-wavelength quantitative determination of complex phenols by high-performance liquid chromatography under isocratic elution", *Journal of Chromatography A*, V. 768, n° 2, (April 1997), 207–13.
234. Angerosa, F., d'Alessandro, N., Corana, F. and Mellerio, G., "Characterization of phenolic and secoiridoid aglycons present in virgin olive oil by gas chromatography-chemical ionization mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, V. 73, n° 1-2, (June 1996), 195–203.
235. Wen, L. and Wrolstad, R.E., "Phenolic Composition of Authentic Pineapple Juice", *Journal of Food Science*, V. 67, n° 1, (January 2002), 155–61.
236. Conde, E., Cadahía, E. and García-Vallejo, M.C., "Low molecular weight polyphenols in leaves of *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* and *E. Rudis*", *Phytochemical Analysis*, V. 8, n° 4, (July 1997), 186-193.
237. Zidorn, C., Gottschlich, G. and Stuppner, H., "Chemosystematic investigations on phenolics from flowerheads of Central European taxa of *Hieracium sensu lato* (Asteraceae)", *Plant Systematics and Evolution*, V. 231, n° 1-4, (March 2002), 39–58.
238. SMOLENSKY, D.C. and VANDERCOOK, C.E., "Discrepancies of the Davis Method in Estimating Hesperidin Content in Orange Juice", *Journal of Food Science*, V. 47, n° 6, (November 1982), 2058–9.
239. Rouseff, R.L., in: S. Nagy, J.A. Attaway, M.E. Rhodes (Eds.), "Adulteration of Fruit Juice Beverages", Dekker, New York, (1988), p. 49.
240. NERGÍZ, C., "The effect of refining processes on the total polyphenol and 1,2-diphenol content of olive oil", *International Journal of Food Science & Technology*, V. 28, n° 5, (July 2007), 461-464.

241. Khokhar, S. and Magnúsdóttir, S.G.M., “Total Phenol, Catechin, and Caffeine Contents of Teas Commonly Consumed in the United Kingdom”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, n° 3, (January 2002), 565–70.
242. Wang, C.-K., Lee, W.-H. and Peng, C.-H., “Contents of Phenolics and Alkaloids in *Areca catechu* Linn. during Maturation”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 45, n° 4, (April 1997), 1185–8.
243. Askal, H.F., Saleh, G.A. and Backheet, E.Y., “A selective spectrophotometric method for determination of quercetin in the presence of other flavonoids”, *Talanta*, V. 39, n° 3, (March 1992), 259–63.
244. Montano Asquerino A., Rejano Navarro L. and Sanchez Gomez A.H., “Determination of total polyphenols in extracted olive pulp and fermentation brines by derivative spectroscopy”, *Consejo Superior de Investigaciones Científicas*, V. 36, n° 4, (July 1985), 274-279.
245. Heimler, D., Pieroni, A., Tattini, M. and Cimato, A., “Determination of flavonoids, flavonoid glycosides and biflavonoids in *Olea europaea* L. Leaves”, *Chromatographia*, V. 33, n° 7-8, (April 1992), 369–73.
246. Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. and Miniati, E., “Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 1. Their extraction, separation, and quantitative and semiquantitative evaluation by HPLC”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 40, n° 9, (September 1992), 1571–6.
247. Montedoro, G., Servili, M., Baldioli, M. and Miniati, E., “Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Initial characterization of the hydrolyzable fraction”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 40, n° 9, (September 1992), 1577–80.
248. Capasso, R., Evidente, A. and Scognamiglio, F., “A simple thin layer chromatographic method to detect the main polyphenols occurring in olive oil vegetation waters”, *Phytochemical Analysis*, V. 3, n° 6, (November 1992), 270–5.
249. Anaëlle, T., Serrano Leon, E., Laurent, V., Elena, I., Mendiola, J. A., Stéphane, C., Nelly, K., Stéphane, L. B., Luc, M. and S.-P. Valérie, “Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model,” *Talanta*, V. 104, (January 2013), 44–52.

250. Tomsone, L., Kruma, Z. and Galoburda, R., “Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*)”, *International Scholarly and Scientific Research & Innovation*, V. 6, n° 4, (January 2012), 236-241.
251. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C. and Pouységu, L., “Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis”, *Angewandte Chemie International Edition*, V. 50, n° 3, (January 2011), 586–621.
252. Dias, M.I., Sousa, M.J., Alves, R.C. and Ferreira, I.C.F.R., “Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review”, *Industrial Crops and Products*, V. 82, (April 2016), 9–22.
253. Ho, C.T., “Phenolic compounds in food: an overview”, *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence, and Chemistry*, Vol. 506 (Eds.; Ho CT, Lee CY, Huang MT), American Chemical Society, Washington, DC, 1992, pp. 2–7.
254. Reis, M., Lobato, B., Lameira, J., Santos, A.S. and Alves, C.N., “A theoretical study of phenolic compounds with antioxidant properties”, *European Journal of Medicinal Chemistry*, V. 42, n°4, (April 2007), 440–6.
255. Wojdylo, A., Oszmiański, J. and Czemerys, R., “Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs”, *Food Chemistry*, V. 105, n° 3, (2007), 940-949.
256. Cartea, M.E., Francisco, M., Soengas, P. and Velasco, P., “Phenolic Compounds in Brassica Vegetables”, *Molecules*, V. 16, n° 1, (January 2011), 251-280.
257. Fischer, U.A., Carle, R. and Kammerer, D.R., “Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSn”, *Food Chemistry*, V. 127, n° 2, (July 2011), 807-821.
258. Pirisi, F.M., Cabras, P., Cao, C.F., Migliorini, M. and Muggelli, M., “Phenolic Compounds in Virgin Olive Oil. 2. Reappraisal of the Extraction, HPLC Separation, and Quantification Procedures”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 48, n° 4, (April 2000), 1191-1196.
259. De la Torre-Carbot, K., Jauregui, O., Gimeno, E., Castellote, A.I., Lamuela-Raventós, R.M. and López-Sabater, M.C., “Characterization and Quantification of Phenolic

Compounds in Olive Oils by Solid-Phase Extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, n° 11, (June 2005), 4331-4340.

260. Weisz, G.M., Kammerer, D.R. and Carle, R., “Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn”, *Food Chemistry*, V. 115, n° 2, (July 2009), 758-765.

261. Gavrilova, V., Kajdžanoska, M., Gjamovski, V. and Stefova, M., “Separation, Characterization and Quantification of Phenolic Compounds in Blueberries and Red and Black Currants by HPLC–DAD–ESI-MSn”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 59, n° 8, (April 2011), 4009-4018.

262. Tomás-Barberán, F.A., Gil, M.I., Cremin, P., Waterhouse, A.L., Hess-Pierce, B. and Kader, A.A., “HPLC–DAD–ESIMS Analysis of Phenolic Compounds in Nectarines, Peaches, and Plums”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n° 10, (October 2001), 4748-4760.

263. Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P. and Drilleau, J.F., “Reversed-Phase HPLC following Thiolytic for Quantitative Estimation and Characterization of the Four Main Classes of Phenolic Compounds in Different Tissue Zones of a French Cider Apple Variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 46, n° 5, (May 1998), 1698-1705.

264. Adamson, G.E., Lazarus, S.A., Mitchell, A.E., Prior, R.L., Coa, G., Jacobs, P.H., Kremers, B.G., Hammerstone, J.F., Rucker, R.B., Ritter, K.A. and Schmitz, H.H., “HPLC Method for the Quantification of Procyanidins in Cocoa and Chocolate Samples and Correlation to Total Antioxidant Capacity”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 47, n° 10, (October 1999), 4184-4188.

265. Proestos, C., Chorianopoulos, N., Nychas, G.-J.E. and Komaitis, M., “RP-HPLC Analysis of the Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 53, n° 4, (February 2005), 1190-1195.

266. Palafox-Carlos, H., Yahia, E.M. and González-Aguilar, G.A., “Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening”, *Food Chemistry*, V. 135, n° 1, (November 2012), 105–111.

267. Al-Turki, A.I., El-Ziney, M.G. and Abdel-Salam, A.M., “Chemical and anti-bacterial characterization of aqueous extracts of oregano, marjoram, sage and licorice and their application in milk and labneh”, *Journal of Food Agriculture & Environment*, V. 6, n° 1, (2008), 39–44.
268. Ross, K.A., Beta, T. and Arntfield, S.D., “A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods”, *Food Chemistry*, V. 113, n° 1, (March 2009), 336–344.
269. Proestos, C., Sereli, D. and Komaitis, M., “Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS”, *Food Chemistry*, 2006, V. 95, n° 1, 44–52.
270. Ibern-Gómez, M., Andrés-Lacueva, C., Lamuela-Raventós, R.M. and Waterhouse, A.L., “Rapid HPLC Analysis of Phenolic Compounds in Red Wines”, *American Journal of Enology and Viticulture*, V. 53, n° 3, (January 2002), 218–221.
271. Chisté, R.C. and Mercadante, A.Z., “Identification and Quantification, by HPLC-DAD-MS/MS, of Carotenoids and Phenolic Compounds from the Amazonian Fruit *Caryocar villosum*”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 60, n° 23, (June 2012), 5884–5892.
272. Lou, S.N. and Ho, C.-T., “Phenolic compounds and biological activities of small-size citrus: Kumquat and calamondin”, *Journal of Food and Drug Analysis*, V. 25, n° 1, (January 2017), 162–175.
273. Stratil, P., Klejdus, B. and Kuban, V., “Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals”, *Talanta*, V. 71, n° 4, (March 2007), 1741–1751.
274. Zheng, W. and Wang, S.Y., “Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 49, n° 11, (November 2001), 5165–5170.
275. Kuwatsuka, S. and Shindo, H., “Behavior of phenolic substances in the decaying process of plants: I. Identification and Quantitative Determination of Phenolic Acids in Rice Straw and Its Decayed Product by Gas Chromatography”, *Soil Science and Plant Nutrition*, V. 19, n° 3, (September 1973), 219–227.
276. Kelebek, H. and Selli, S., “Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice”,

Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 91, n° 10, (August 2011), 1855–1862.

277. Razboršek, M.I., Vončina, D.B., Doleček, V. and Vinčina, E., “Determination of Major Phenolic Acids, Phenolic Diterpenes and Triterpenes in Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by Gas Chromatography and Mass Spectrometry”, *Acta Chimica Slovenica*, V. 54, n° 1, (2007), 60–67.

278. Thorsen, M.A. and Brandt, K.S., “Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts: Aspects of accurate quantification”, *Journal of Chromatography A*, V. 995, n° 1-2, (May 2003), 119–125.

279. Cuevas-Glony, L.F., Pino, J.A., Santiago, L.S. and Sauri-Duch, L.F., “A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey”, *Food Chemistry*, V. 103, n° 3, (January 2007), 1032–1043.

280. Manyi-Loh, C.E., Ndip, R.N. and Clarke, A.M., “Volatile Compounds in Honey: A Review on Their Involvement in Aroma, Botanical Origin Determination and Potential Biomedical Activities”, *International Journal of Molecular Sciences*, V. 12, n° 12, (December 2011), 9514–9532.

281. Karagiannis, S., Economou, A. and Lanaridis, P., “Phenolic and Volatile Composition of Wines Made from *Vitis vinifera* Cv. Muscat Lefko Grapes from the Island of Samos”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 48, n° 11, (November 2000), 5369–5375.

282. Grevsen, K., Frette, X.C. and Christensen, L.P., “Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek Oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate”, *European Journal of Horticultural Science*, V. 74, n° 5, (June 2009), S. 193–203.

283. Leyva-Lopez, N., Nair, V., Bang, W.Y., Cisneros-Zevallos, L. and Basiliotteredia, J., “Protective role of terpenes and polyphenols from three species of Oregano (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells”, *Journal of Ethnopharmacology*, V. 187, (July 2016), 302–312.

284. Wen, D., Li, C., Di, H., Liao, Y. and Liu, H., “A Universal HPLC Method for the Determination of Phenolic Acids in Compound Herbal Medicines”, *Journal of*

- Agricultural and Food Chemistry, V. 53, n° 17, (August 2005), 6624–6629.
285. Kesen, S., Keleş, H. and Selli, S., “Characterization of the Volatile, Phenolic and Antioxidant Properties of Monovarietal Olive Oil Obtained from cv. Halhali”, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, V. 90, n° 11, (November 2013), 1685–1696.
286. Nakatani, N., Kayano, S., Kikuzaki, H., Sumino, K., Katagiri, K. and Mitani, T., “Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 48, n° 11, (November 2000), 5512–5516.
287. Ignat, I., Volf, I. and Popa, V.I., “A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables”, *Food Chemistry*, V. 126, n° 4, (June 2011), 1821-1835.
288. Naczek, M. and Shahidi, F., “Extraction and analysis of phenolics in food”, *Journal of Chromatography A*, V. 1054, n° 1-2, (October 2004), 95-111.
289. Kumar BR, B.R., “Application of HPLC and ESI-MS techniques in the analysis of phenolic acids and flavonoids from green leafy vegetables (GLVs)”, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, V. 7, n° 6, (December 2017), 349-364.
290. Xu C.-C., Wang B., Pu Y.-Q., Tao J.-S., Zhang T., “Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials”, *Chinese Journal of Natural Medicines*, V. 15, n°10, (October 2017), 721-731.
291. Tura, D. and Robards, K., “Sample handling strategies for determination of biophenols in food and plants”, *Journal of Chromatography A*, V. 975, n° 1, (October 2002), 71-93.
292. Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J. et al., “Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 47, n° 10, (October 1999), 3954-3962.
293. Robards, K., “Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruits and vegetables”, *Journal of Chromatography A*, V. 1000, n° 1-2, (June 2003), 657-691.
294. Amarowicz, R. and Shahidi, F., “Antioxidant activity of broad bean seed extract and its phenolic composition”, *Journal of Functional Foods*, V. 38, (November 2017),

656-662.

295. Hossain, M.B., Rai, D.K., Brunton, N.P., Martin-Diana, A.B. and Barry-Ryan, C., "Characterization of phenolic composition in Lamiaceae Spices by LC-ESI-MS/MS", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 58, n° 19, (October 2010), 10576-10581.

296. Mattila, P. and Kumpulainen, J., "Determination of Free and Total Phenolic Acids in Plant-Derived Foods by HPLC with Diode-Array Detection", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, n° 13, (June 2002), 3660-3667.

297. Schieber, A., Keller, P. and Carle, R., "Determination of phenolic acids and flavonoids of apple and pear by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, V. 910, n° 2, (March 2001), 265-273.

298. Nardini, M. and Ghiselli, A., "Determination of free and bound phenolic acids in beer", *Food Chemistry*, V. 84, n° 1, (January 2004), 137-143.

299. Bojić, M., Simon Haas, V., Šarić, D. and Maleš, Ž., "Determination of Flavonoids, Phenolic Acids, and Xanthines in Mate Tea (*Ilex paraguariensis* St.-Hil.)", *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, (2013), 1-6.

300. Lewis, C.E., Walker, J.R.L., Lancaster, J.E. and Sutton, K.H., "Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 77, n° 1, (May 1998), 45-57.

301. Ramamurthy, M.S., Maiti, B., Thomas, P. and Nair, P.M., "High-performance liquid chromatography determination of phenolic acids in potato tubers (*Solanum tuberosum*) during wound healing", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 40, n° 4, (April 1992), 569-572.

302. Kim, K.H., Tsao, R., Yang, R. and Cui, S.W., "Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions", *Food Chemistry*, V. 95, n° 3, (April 2006), 466-473.

303. Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E. and Komaitis, M., "Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity", *Food Chemistry*, V. 95, n° 4, (April 2006), 664-671.

304. Barros, L., Duenas, M., Ferreira, I.C.F.R., Baptista, P. and Santos-buelga, C., "Phenolic acids determination by HPLC–DAD–ESI/MS in sixteen different Portuguese wild mushrooms species", *Food and Chemical Toxicology*, V. 47, n° 6, (June 2009), 1076-1079.
305. Shahrzad, S. and Bitsch, I., "Determination of some pharmacologically active phenolic acids in juices by high-performance liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, V. 741, n° 2, (August 1996), 223-231.
306. Zuo, Y., Chen, H. and Deng, Y., "Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, Oolong, black and Pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector", *Talanta*, V. 57, n° 2, (May 2002), 307-316.
307. Luthria, D.L. and Pastor-Corrales, M.A., "Phenolic acids content of fifteen dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties", *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 19, n° 2-3, (March 2006), 205-211.
308. Häkkinen, S., Heinonen, M., Kärenlampi, S., Mykkänen, H., Ruuskanen, J. and Törrönen, R., "Screening of selected flavonoids and phenolic acids in 19 berries", *Food Research International*, V. 32, n° 5, (June 1999), 345-353.
309. Matilla, P., Hellström, J. and Törrönen R., "Phenolic Acids in Berries, Fruits, and Beverages", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 54, n° 19, (September 2006), 7193-7199.
310. Fragoso, S., Acena, L., Guasch, J., Busto, O. and Mestres, M., "Application of FT-MIR Spectroscopy for Fast Control of Red Grape Phenolic Ripening", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 59, n° 6, (March 2011), 2175-2183.
311. Patz, C.D., Blicke, A., Ristow, R. and Dietrich, H., "Application of FT-MIR spectrometry in wine analysis", *Analytica Chimica Acta*, V. 513, n° 1, (June 2004), 81-89.
312. Fragoso, S., Acena, L., Guasch, J., Mestres, M. and Busto, O., "Quantification of Phenolic Compounds during Red Winemaking Using FT-MIR Spectroscopy and PLS-Regression", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 59, n° 20, (October 2011), 10795-10802.
313. Stehfest, K., Boese, M., Kerns, G., Piry, A. and Wilhelm, C., "Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool to determine rosmarinic acid in situ", *Journal of*

Plant Physiology, V. 161, n° 2, (January 2004), 151–6.

314. Chen, Q., Zhao, J., Liu, M., Cai, J. and Liu, J., “Determination of total polyphenols content in green tea using FT-NIR spectroscopy and different PLS algorithms”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 46, n° 3, (February 2008), 568–73.

315. Li, W. and Qu, H., “Rapid quantification of phenolic acids in Radix Salvia Miltorrhiza extract solutions by FT-NIR spectroscopy in transreflective mode”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 52, n° 4, (August 2010), 425–31.

316. Qi, S., Ouyang, Q., Chen, Q. and Zhao, J., “Real-time monitoring of total polyphenols content in tea using a developed optical sensors system”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 97, (August 2014), 116–22.

317. Avula, B., Wang, Y.-H., Wang, M., Avonto, C., Zhao, J., Smillie, T.J. et al., “Quantitative determination of phenolic compounds by UHPLC-UV-MS and use of partial least-square discriminant analysis to differentiate chemo-types of Chamomile/Chrysanthemum flower heads”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 88, (January 2014), 278–88.

318. Pei, L.-K., Sun, S.-Q., Guo, B.-L., Huang, W.-H. and Xiao, P.-G., “Fast quality control of Herba Epimedii by using Fourier transform infrared spectroscopy”, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, V. 70, n° 2, (July 2008), 258–64.

319. Oliveira, R.N., Mancini, M.C., Oliveiran, F.C.S. de, Passos, T.M., Quilty, B., Thiré, R.M. da S.M., and McGuinness, G. B., “FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing”, *Matéria (Rio de Janeiro)*, V. 21, n° 3, (September 2016), 767–79.

320. Barraza-Garza, G., Castillo-Michel, H., de la Rosa, L.A., Martinez-Martinez, A., Pérez-León, J.A., Cotte, M., et al., “Infrared Spectroscopy as a Tool to Study the Antioxidant Activity of Polyphenolic Compounds in Isolated Rat Enterocytes”, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, V. 2016, (2016), 1–10.

321. Pappas, C.S., Takidelli, C., Tsantili, E., Tarantilis, P.A. and Polissiou, M.G., “Quantitative determination of anthocyanins in three sweet cherry varieties using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy”, *Journal of Food*

Composition and Analysis, V. 24, n° 1, (February 2011), 17–21.

322. Cozzolina, D., “The Role of Visible and Infrared Spectroscopy Combined with Chemometrics to Measure Phenolic Compounds in Grape and Wine Samples”, *Molecules*, V. 20, n°1, (January 2015), 726-737.

323. Tahir, H.E., Xiaobo, Z., Zhihua, L., Jiyong, S., Zhai, X., Wang, S., et al., “Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy”, *Food Chemistry*, V. 226, (January 2017), 202–11.

324. Höskuldsson, A. and Esbensen KH., “Multivariate data analysis:quo vadis?”, *Journal of Chemometrics*, V. 17, n° 1, (January 2003), 45–52.

325. Kirwan, G.M, Johansson, E., Kleemann, R., Verheij, E.R., Wheelock, Å.M., Goto, S., et al., “Building Multivariate Systems Biology Models”, *Analytical Chemistry*, V. 84, n° 16, (August 2012), 7064–71.

326. Chang, W.-Q., Zhou, J.-L., Li, Y., Shi, Z.-Q., Wang, L., Yang, J., et al., “An in vitro approach for lipolysis measurement using high-resolution mass spectrometry and partial least squares based analysis”, *Analytica Chimica Acta*, V. 950, (January 2017), 138–46.

327. Fujisawa, S., Atsumi, T., Kadoma, Y. and Sakagami, H., “Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity”, *Toxicology*, V. 177, n° 1, (August 2002), 39-54.

328. Hosoda, A., Ozaki, Y., Kashiwada, A., Mutoh, M., Wakabayashi, K., Mizuno, K., Nomura, E. and Taniguchi, H., “Syntheses of ferulic acid derivatives and their suppressive effects on cyclooxygenase-2 promoter activity”, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, V. 10, n° 4, (April 2002), 1189-1196.

329. Lee, S.K., Mbwambo, Z.H., Chung, H.S., Luyengi, L., Gamez, E.J.C., Mehta, R.G., Kinghorn, A.D. and Pezzuto, J.M., “Evaluation of the antioxidant potential of natural products”, *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, V. 1, n° 1, (April 1998), 35-46.

330. Gruz, J., Ayaz, F.A., Torun, H. and Strand, M., “Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening”, *Food Chemistry*, V. 124, n° 1, (January 2011), 271-277.

331. Stuart, A.E., Brooks, C.J.W., Prescott, R.J. and Blackwell, A., “Repellent and Antifeedant Activity of Salicylic Acid and Related Compounds Against the Biting Midge, *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae)”, *Journal of Medical Entomology*, V. 37, n° 2, (March 2000), 222-227.
332. Heil, M. and Bostock, R.M., “Induced Systemic Resistance (ISR) Against Pathogens in the Context of Induced Plant Defences”, *Annals of Botany*, V. 89, n° 5, (May 2002), 503-512.
333. Verberne, M.C., Budi Muljono, R.A. and Verpoorte, R., “Salicylic acid biosynthesis”, In: Hooykaas PPJ, Hall MA, Libbenga KR (eds). *Biochemistry and molecular biology of plant hormones*, (1999), Elsevier Science B.V, Amsterdam, Chapter 13, 295-312.
334. Natella, F., Nardini, M., Di Felice, M. and Scaccini, C., “Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 47, n° 4, (April 1999), 1453–1459.
335. Sircar, D. and Mitra, A., “Accumulation of p-hydroxybenzoic acid in hairy roots of *Daucus carota*: confirming biosynthetic steps through feeding of inhibitors and precursors”, *Journal of Plant Physiology*, V. 166, n° 13, (September 2009), 1370-1380.
336. Pugazhendhi, D., Pope, G.S. and Darbre, P.D., “Oestrogenic activity of p-hydroxybenzoic acid (common metabolite of paraben esters) and methylparaben in human breast cancer cell lines”, *Journal of Applied Toxicology*, V. 25, n° 4, (July 2005), 301-309.
337. Chong, K.P., Rossall, S. and Atong, M., “In Vitro Antimicrobial Activity and Fungitoxicity of Syringic Acid, Caffeic Acid and 4-hydroxybenzoic Acid against *Ganoderma Boninense*”, *Journal of Agricultural Science*, V. 1, n° 2, (November 2009), 15–20.
338. Ashidate, K., Kawamura, M., Mimura, D., Tohda, H., Miyazaki, S., Teramoto, T., Yamamoto, Y. and Hirata, Y., “Gentisic acid, an aspirin metabolite, inhibits oxidation of low-density lipoprotein and the formation of cholesterol ester hydroperoxides in human plasma”, *European Journal of Pharmacology*, V. 513, n° 3, (April 2005), 173-179.
339. Sharma, S., Khan, N. and Sultana, S., “Modulatory effect of gentisic acid on the

augmentation of biochemical events of tumor promotion stage by benzoyl peroxide and ultraviolet radiation in Swiss albino mice”, *Toxicology Letters*, V. 153, n° 3, (November 2004), 293-302.

340. Fernandez, I.S., Cuevas, P., Angulo, J., Lopez-Navajas, P., Canales-Mayordomo, A., Gonzalez-Corrochano, R., Lozano, R.M., Valverde, S., Jimenez-Barbero, J., Romero, A. and Gimenez-Gallego, G., “Gentisic acid, a compound associated with plant defense and a metabolite of aspirin, heads a new class of in vivo fibroblast growth factor inhibitors”, *Journal of Biological Chemistry*, V. 285, n° 15, (April 2010), 11714-11729.

341. Wang, H.F., Provan, G.J. and Helliwell, K., “Determination of hamamelitannin, catechins and gallic acid in witch hazel bark, twig and leaf by HPLC”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, V. 33, n° 4, (November 2003), 539-544.

342. Wu, J.M., Jan, P.S., Yu, H.C., Haung, H.Y., Fang, H.J., Chang, Y.I., Cheng, J.W. and Chen, H.M., “Structure and function of a custom anticancer peptide, CB1a”, *Peptides*, V. 30, n° 5, (May 2009), 839-848.

343. King, P.J., Ma, G., Miao, W., Jia, Q., McDougall, B.R., Reinecke, M.G., Cornell, C., Kuan, J., Kim, T.R. and Robinson, W.E. Jr, “Structure-activity relationships: analogues of the dicaffeoylquinic and dicaffeoyltartaric acids as potent inhibitors of human immunodeficiency virus type 1 integrase and replication”, *Med Chem*, V. 42, (1999), 497.

344. Luy, J.F., Jiang, H., Wu, K., Zheng, X., Cai, Y., Katakowski, M. and Chopp, M., “Gallic acid suppresses cell viability, proliferation, invasion and angiogenesis in human glioma cells”, *European Journal of Pharmacology*, V. 641, n° 2-3, (September 2010), 102-107.

345. Kratz, J.M., Andrighetti-Frohner, C.R., Leal, P.C., Nunes, R.J., Yunes, R.A., Trybala, E., Bergstrom, T., Barardi, C.R.M. and Simoes, C.M.O., “Evaluation of anti-HSV-2 activity of gallic acid and pentyl gallate”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, V. 31, n° 5, (May 2008), 903-907.

346. Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Kobayashi, M., Tamesada, M. and Yagi, K., “Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on concanavalin A-induced liver injury”, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, V. 32, n° 7, (July 2009), 1215-1219.

347. Dhananjaya, B.L., Nataraju, A., Gowda, C.D.R., Sharath, B.K. and D'Souza, C.J.M., "Vanillic acid as a novel specific inhibitor of snake venom 50-nucleotidase: a pharmacological tool in evaluating the role of the enzyme in snake envenomation", *Biochemistry (Moscow)*, V. 74, n° 12, (December 2009), 1315-1319.
348. Pari, L. and Mohamed Jalaludeen, A., "Protective role of sinapic acid against arsenic: induced toxicity in rats", *Chemico-Biological Interactions*, V. 194, n° 1, (October 2011), 40-47.
349. Kanchana, G., Shyni, W.J., Rajadurai, M. and Periasamy, R., "Evaluation of antihyperglycemic effect of sinapic acid in normal and streptozotocin-induced diabetes in albino rats", *Global Journal of Pharmacology*, V. 5, n° 1, (2011), 33-39.
350. Njoku, O.V. and Obi, C., "Phytochemical constituents of some selected medicinal plants", *African Journal of Pure and Applied Chemistry*, V. 3, n° 11, (November 2009), 228-233.
351. Ralph, J., Grabber, J.H. and Hatfield, R.D., "Lignin-ferulate crosslinks in grasses: active incorporation of ferulate polysaccharide esters into ryegrass lignins", *Carbohydrate Research*, V. 275, n° 1, (September 1995), 167-178.
352. Parker, M.L. and Waldron, K.W., "Texture of Chinese water chestnut: involvement of cell wall phenolics", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 68, n° 3, (July 1995), 337-346.
353. Dewick, P.M., "Medicinal natural products: a biosynthetic approach", 2nd edn. Wiley, Chichester, *Phytochemistry*, V. 60, n° 6, (July 2002), pp 112-129.
354. Geissmann, T. and Neukom, H., "Vernetzung von Phenolcarbonsaureestern von Polysacchariden durch oxydative phenolische Kupplung", *Helvetica Chimica Acta*, V. 54, n° 4, (April 1971), 1108-1112.
355. Grabber, J.J.H., Hatfield, R.D. and Wende, G., "New discoveries relating to diferulates", (1996), U.S. Dairy Forage Research Center Research, pp 70-71.
356. Han, E.H., Choi, J.H., Hwang, Y.P., Park, H.J., Choi, C.Y., Chung, Y.C., Seo, J.K. and Jeong, H.G., "Immunostimulatory activity of aqueous extract isolated from *Prunella vulgaris*", *Food and Chemical Toxicology*, V. 47, n° 1, (January 2009), 62-69.
357. Hras, A.R., Hadolin, M., Knez, Z. and Bauman, D., "Comparison of antioxidative

and synergistic effects of rosemary extract with  $\alpha$ -tocopherol, ascorbyl palmitate and citric acid in sunflower oil”, *Food Chemistry*, V. 71, n° 2, (November 2000), 229-233.

358. Rimando, A.M., Inoshiri, S., Otsuka, H., Kohda, H., Yamazaki, K., Padolina, W.G., Torres, L., Quintana, E.G. and Cantoria, M.C., “Screening for mast cell histamine release inhibitory activity of Philippine medicinal plants: active constituent of *Ehretia microphylla*”, *Shoyakugaku Zasshi*, V. 41, (1987), 242-247.

359. Makino, T., Ono, T., Nakamura, T., Muso, E., Honda, G. and Sasayama, S., “Suppressive effect of rosmarinic acid on mesangioproliferative glomerulonephritis in rats”, *Nephron*, V. 92, n° 4, (2002), 898–904.

360. Sanbongi, C., Takano, H., Osakabe, N., Sasa, N., Natsume, M., Yanagisawa, R., Inoue, K.I., Sadakane, K., Ichinose, T. and Yoshikawa, T., “Rosmarinic acid in perilla extract inhibits allergic inflammation induced by mite allergen, in a mouse model”, *Clinical Experimental Allergy*, V. 34, n° 6, (June 2004), 971-977.

361. Lee, H.S. and Widmer, B.W., “Phenolic compounds”, In: Nollet LML (ed) *Handbook of food analysis. Physical characterization and nutrient analysis*. Marcel Dekker, New York, (1996).

362. Javanmardi, J., Khalighi, A., Kashi, A., Bais, H.P. and Vivanco, J.M., “Chemical Characterization of Basil (*Ocimum basilicum*L.) Found in Local Accessions and Used in Traditional Medicines in Iran”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 50, n° 21, (October 2002), 5878–83.

363. Charles, D.J. and Simon, J.E., “Comparison of Extraction Methods for the Rapid Determination of Essential Oil Content and Composition of Basil”, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, V. 115, N° 3, (May 1990), 458–62.

364. Tada, H., Murakami, Y., Omoto, T., Shimomura, K. and Ishimaru, K., “Rosmarinic acid and related phenolics in hairy root cultures of *Ocimum basilicum*”, *Phytochemistry* V. 42, n° 2, (May 1996), 431–4.

365. Ng, A., Harvey, A.J., Parker, M.L., Smith, A.C. and Waldron, K.W., “Effect of Oxidative Coupling on the Thermal Stability of Texture and Cell Wall Chemistry of Beet Root (*Beta vulgaris*)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 46, n° 8, (August 1998), 3365–70.

366. Parr, A.J., Waldron, K.W., Ng, A. and Parker, M.L. “The Wall-Bound Phenolics

of Chinese Water Chestnut (*Eleocharis dulcis*)”, Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 71, n° 4, (August 1996), 501-507.

367. Kujala, T.S., Lojonen, J.M., Klika, K.D. and Pihlaja, K., “Phenolics and Betacyanins in Red Beetroot (*Betavulgaris*) Root: Distribution and Effect of Cold Storage on the Content of Total Phenolics and Three Individual Compounds”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 48, n° 11, (November 2000), 5338–42.

368. Waldron, K.W., Ng, A., Parker, M.L. and Parr, A.J., “Ferulic Acid Dehydrodimers in the Cell Walls of *Beta vulgaris* and their Possible Role in Texture”, Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 74, n° 2, (June 1997), 221-228.

369. Jing Yu, Thava Vasanthan, and Feral Temelli., “Analysis of Phenolic Acids in Barley by High-Performance Liquid Chromatography”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 49, n° 9, (September 2001), 4352-4358.

370. Madhujith, T., Izydorczyk, M. and Shahidi, F., “Antioxidant Properties of Pearled Barley Fractions”, Journal of Agricultural and Food Chemistry, V. 54, n° 9, (May 2006), 3283–9.

371. Nordkvist, E., Salomonsson, A.-C. and Åman, P., “Distribution of insoluble bound phenolic acids in barley grain”, Journal of the Science of Food and Agriculture, V. 35, n° 6, (June 1984), 657–61.

372. BABIC, I., AMIOT, M.J., NGUYEN-THE, C. and AUBERT, S., “Changes in Phenolic Content in Fresh Ready-to-use Shredded Carrots during Storage”, Journal of Food Science, V. 58, n° 2, (March 1993), 351–6.

373. Zhang, D. and Hamazu, Y., “Phenolic compounds and their antioxidant properties in different tissues of carrots (*Daucus carota* L.)”, The Journal of Food, Agriculture and Environment, V. 2, (January 2004), 95-100.

374. Liu, S.C., Lin, J.T., Hu, C.C., Shen, B.Y., Chen, T.Y., Chang, Y.L., Shih, C.H. and Yang, D.J., “Phenolic compositions and antioxidant attributes of leaves and stems from three inbred varieties of *Lycium chinense* Miller harvested at various times”, Food Chemistry, V. 15, n° 215, (January 2017), 284-91.

375. ISMAIL, A., MARJAN, Z. and FOONG, C., “Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables”, Food Chemistry, V. 87, n° 4, (October 2004), 581–6.

376. Bunea, A., Andjelkovic, M., Socaciu, C., Bobis, O., Neacsu, M., Verhé, R., et al., "Total and individual carotenoids and phenolic acids content in fresh, refrigerated and processed spinach (*Spinacia oleracea* L.)", *Food Chemistry*, V. 108, n° 2, (May 2008), 649–56.
377. Fan, D., Hodges, D.M., Zhang, J., Kirby, C.W., Ji, X., Locke, S.J., et al., "Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress", *Food Chemistry*, V. 124, n° 1, (January 2011), 195–202.
378. Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., et al., "Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits", *Food Chemistry*, V. 129, n° 2, (November 2011), 345–50.
379. Vázquez, E., García-Risco, M.R., Jaime, L., Reglero, G. and Fornari, T., "Simultaneous extraction of rosemary and spinach leaves and its effect on the antioxidant activity of products", *The Journal of Supercritical Fluids*, V. 82, (October 2013), 138–45.
380. Chen, G.L., Luo, C.-X., Li, J. et al., "Total phenolic contents of 33 fruits and their antioxidant capacities before and after in vitro digestion", *Industrial Crops and products*, V. 57, (June 2014), 150-157.
381. Do, Q.D., Angkawijaya, A.E., Tran-Nguyen, P.L., Huynh, L.H., Soetaredjo, F.E., Ismadji, S., et al., "Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*", *The Journal of Food and Drug Analysis (JFDA)*, V. 22, n° 3, (September 2014), 296–302.
382. Altemimi, A., Choudhary, R., Watson, D.G. and Lightfoot, D.A., "Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts", *Ultrasonics Sonochemistry*, V. 24, (May 2015), 247–55.
383. Khanam, U.K.S., Oba, S., Yanase, E. and Murakami, Y., "Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables", *Journal of Functional Foods*, V. 4, n° 4, (October 2012), 979–87.
384. Amin, I., Norazaidah, Y. and Hainida, K.I.E., "Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched *Amaranthus* species", *Food Chemistry*, V. 94, n° 1,

(January 2006), 47–52.

385. Fan, D., Hodges, D.M., Zhang, J., Kirby, C.W, Ji, X., Locke, S.J., et al., “Commercial extract of the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* enhances phenolic antioxidant content of spinach (*Spinacia oleracea* L.) which protects *Caenorhabditis elegans* against oxidative and thermal stress”, *Food Chemistry*, V. 124, n° 1, (January 2011), 195–202.

386. Sytar, O., Zivcak, M., Bruckova, K., Brestic, M., Hemmerich, I., Rauh, C., et al., “Shift in accumulation of flavonoids and phenolic acids in lettuce attributable to changes in ultraviolet radiation and temperature”, *Scientia Horticulturae*, V. 239, (September 2018), 193–204.

387. Konsoula, Z. and Liakopoulou-Kyriakides, M., “Effect of endogenous antioxidants of sesame seeds and sesame oil to the thermal stability of edible vegetable oils”, *LWT - Food Science and Technology*, V. 43, n° 9, (November 2010), 1379–86.

388. Wu, R., Ma, F., Zhang, L., Li, P., Li, G., Zhang, Q., et al., “Simultaneous determination of phenolic compounds in sesame oil using LC–MS/MS combined with magnetic carboxylated multi-walled carbon nanotubes”, *Food Chemistry*, V. 204, (August 2016), 334–42.

389. Chen, J., Chen, Y., Tian, J., Ge, H., Liang, X., Xiao, J., et al., “Simultaneous determination of four sesame lignans and conversion in *Monascus* aged vinegar using HPLC method”, *Food Chemistry*, V. 256, (August 2018), 133–9.

390. Ghisoni, S., Chiodelli, G., Rocchetti, G., Kane, D. and Lucini, L., “UHPLC-ESI-QTOF-MS screening of lignans and other phenolics in dry seeds for human consumption”, *Journal of Functional Foods*, V. 34, (July 2017), 229–36.

391. Wu, G., Chang, C., Hong, C., Zhang, H., Huang, J., Jin, Q., et al., “Phenolic compounds as stabilizers of oils and antioxidative mechanisms under frying conditions: A comprehensive review”, *Trends in Food Science & Technology*, V. 92, (October 2019), 33–45.

392. Gerstenmeyer, E., Reimer, S., Berghofer, E., Schwartz, H. and Sontag, G., “Effect of thermal heating on some lignans in flax seeds, sesame seeds and rye”, *Food Chemistry*, V. 138, n° 2-3, (June 2013), 1847–55.

393. Bodoira, R., Velez, A., Andreatta, A.E., Martínez, M. and Maestri, D.,

“Extraction of bioactive compounds from sesame (*Sesamum indicum* L.) defatted seeds using water and ethanol under sub-critical conditions”, *Food Chemistry*, V. 237, (December 2017), 114–20.

394. Sarkis, J.R., Michel, I., Tessaro, I.C. and Marczak, L.D.F., “Optimization of phenolics extraction from sesame seed cake”, *Separation and Purification Technology*, V. 122, (February 2014), 506–14.

395. Chen, J., Chen, Y., Tian, J., Ge, H., Liang, X., Xiao, J., et al., “Simultaneous determination of four sesame lignans and conversion in *Monascus* aged vinegar using HPLC method”, *Food Chemistry*, V. 256, (August 2018), 133–9.

396. Furrer, A., Cladis, D.P., Kurilich, A., Manoharan, R. and Ferruzzi, M.G., “Changes in phenolic content of commercial potato varieties through industrial processing and fresh preparation”, *Food Chemistry*, V. 218, (March 2017), 47-55.

397. Del Pino-García, R., González-SanJosé, M.L., Rivero-Pérez, M.D., García-Lomillo, J. and Muñiz, P., “The effects of heat treatment on the phenolic composition and antioxidant capacity of red wine pomace seasonings”, *Food Chemistry*, V. 221, (April 2017), 1723-1732.

398. Han, Z., Cai, S., Zhang, X., Qian, Q., Huang, Y., Dai, F., et al., “Development of predictive models for total phenolics and free p-coumaric acid contents in barley grain by near-infrared spectroscopy”, *Food Chemistry*, V. 227, (July 2017), 342–8.

399. Fernandes, M.d.S., Lima, F.S., Rodrigues, D., Handa, C., Guelfi, M., Garcia, S. and Ida, E.I., “Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the *in vitro* digestive system simulation”, *Food Chemistry*, V. 229, (August 2017), 373-380.

400. Shumoy, Habtu., Gabaza, Molly., Vandavelde, Julie., & Raes, Katleen., “Soluble and bound phenolic contents and antioxidant capacity of tef injera as affected by traditional fermentation”, *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 58, (May 2017), 52-59.

401. Chen, G.-L., Zhang, X., Chen, S.-G., Han, M.-D. and Gao, Y.-Q., “Antioxidant activities and contents of free, esterified and insoluble-bound phenolics in 14 subtropical fruit leaves collected from the south of China”, *Journal of Functional Foods*, V. 30, (March 2017), 290–302.

402. Ismail, H.F., Hashim, Z., Soon, W.T., Rahman, N.S.A., Zainudin, A.N. and Majid, F.A.A., “Comparative study of herbal plants on the phenolic and flavonoid content, antioxidant activities and toxicity on cells and zebrafish embryo”, *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, V. 7, n° 4, (October 2017), 452–65.
403. Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A. et Mahmood, Z., “Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa ( *Nepeta bracteata* Benth)”, *Journal of Taibah University Medical Sciences*, V. 12, n° 4, (August 2017), 360–3.
404. Zorić, Z., Pelaić, Z., Pedisić, S., Elez Garofulić, I., Bursać Kovačević, D. and Dragović-Uzelac, V., “Effect of storage conditions on phenolic content and antioxidant capacity of spray dried sour cherry powder”, *LWT - Food Science and Technology*, V. 79, (June 2017), 251–9.
405. Berezina, E.V., Brilkina, A.A. and Veselov, A.P., “Content of phenolic compounds, ascorbic acid, and photosynthetic pigments in *Vaccinium macrocarpon* Ait. dependent on seasonal plant development stages and age (the example of introduction in Russia)”, *Scientia Horticulturae*, V. 218, (April 2017), 139–46.
406. Muddathir, A.M., Yamauchi, K., Batubara, I., Mohieldin, E.A.M. and Mitsunaga, T., “Anti-tyrosinase, total phenolic content and antioxidant activity of selected Sudanese medicinal plants”, *South African Journal of Botany*, V. 109, (March 2017), 9–15.
407. Hu, Y., Pan, Z.J., Liao, W., Li, J., Gruget, P., Kitts, D.D. and Lu, X., “Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Chocolate by Attenuated Total Reflectance-Fourier Transformed-Infrared Spectroscopy”, *Food Chemistry*, V. 202, (July 2016), 254-261.
408. Ho, S.-C., Chang, K.-S. and Chang, P.-W., “Inhibition of neuroinflammation by cinnamon and its main components”, *Food Chemistry*, V. 138, n° 4, (June 2013), 2275–82.
409. Harrison, M.M., Tyler, A.C., Hellquist, C.E. and Pagano, T., “Phenolic content of invasive and non-invasive emergent wetland plants”, *Aquatic Botany*, V. 136, (January 2017), 146-154.
410. Sahamishirazi, S., Moehring, J., Claupein, W. and Graeff-Hoenninger, S.,

“Quality assessment of 178 plum cultivars regarding phenolic, anthocyanin and sugar content”, *Food Chemistry*, V. 214, (January 2017), 694-701.

411. Pawar, S.S. and Dasgupta, D., “Quantification of phenolic content from stem-bark and root of *Hugonia mystax* Linn. using RP-HPLC”, *Journal of King Saud University – Science*, V. 30, n° 3, (July 2018), 293–300.

412. Guri, A., Kefalas, P. and Roussis, V., “Antioxidant potential of six pine species”, *Phytotherapy Research*, V. 20, n° 4, (April 2006); 263–6.

413. Lantto, T.A., Dorman, H.J.D., Shikov, A.N., Pozharitskaya, O.N., Makarov, V.G., Tikhonov, V.P., et al., “Chemical composition, antioxidative activity and cell viability effects of a Siberian pine (*Pinus sibirica* Du Tour) extract”, *Food Chemistry*, V. 112, n° 4, (February 2009), 936–43.

414. Guri, A., Kefalas, P. and Roussis, V., “Antioxidant potential of six pine species”, *Phytotherapy Research*, V. 20, n° 4, (April 2006), 263–6.

415. Saleem, A. and Kivelä, H., “Antioxidant Activity of Pine Bark Constituents”, *Zeitschrift für Naturforschung C*, Walter de Gruyter GmbH, V. 58, n° 5-6, (June 2003), 351–4.

416. Medina-Juárez, L.Á., Molina-Quijada, D.M.A., Del Toro Sánchez, C.L., González-Aguilar, G.A. and Gámez-Meza, N., “Antioxidant activity of peppers (*Capsicum annuum* L.) extracts and characterization of their phenolic constituents”, *Interciencia*, V. 37, n° 8, Agosto, (August 2012), 588-593.

417. Hallmann, E. and Rembiałkowska, E., “Characterisation of antioxidant compounds in sweet bell pepper (*Capsicum annuum* L.) under organic and conventional growing systems”, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, V. 92, n° 12, (February 2012), 2409–15.

418. Materska, M. and Perucka, I., “Antioxidant Activity of the Main Phenolic Compounds Isolated from Hot Pepper Fruit (*Capsicum annuum*L.)”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry. American Chemical Society (ACS)*, V. 53, n° 5, (March 2005), 1750–6.

419. Choi, S.-H., Kozukue, N., Kim, H.-J. and Friedman, M., “Analysis of protein amino acids, non-protein amino acids and metabolites, dietary protein, glucose, fructose, sucrose, phenolic, and flavonoid content and antioxidative properties of

potato tubers, peels, and cortexes (pulps)”, *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 50, (July 2016), 77–87.

420. Rytel, E., Tajner-Czopek, A., Kita, A., Aniołowska, M., Kucharska, A.Z., Sokół-Łętowska, A., et al., “Content of polyphenols in coloured and yellow fleshed potatoes during dices processing”, *Food Chemistry*, V. 161, (October 2014), 224–9.

421. Tierno, R., Hornero-Méndez, D., Gallardo-Guerrero, L., López-Pardo, R. and de Galarreta, J.I.R., “Effect of boiling on the total phenolic, anthocyanin and carotenoid concentrations of potato tubers from selected cultivars and introgressed breeding lines from native potato species”, *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 41, (August 2015), 58–65.

422. Albishi, T., John, J.A., Al-Khalifa, A.S. and Shahidi, F., “Phenolic content and antioxidant activities of selected potato varieties and their processing by-products”, *Journal of Functional Foods*, V. 5, n° 2, (April 2013), 590–600.

423. Ortega-García, J.G., Montes-Belmont, R., Rodríguez-Monroy, M., Ramírez-Trujillo, J.A., Suárez-Rodríguez, R. and Sepúlveda-Jiménez, G., “Effect of *Trichoderma asperellum* applications and mineral fertilization on growth promotion and the content of phenolic compounds and flavonoids in onions”, *Scientia Horticulturae*, V. 195, (November 2015), 8–16.

424. Sharma K, Ko EY, Assefa AD, Ha S, Nile SH, Lee ET, et al. “Temperature-dependent studies on the total phenolics, flavonoids, antioxidant activities, and sugar content in six onion varieties”, *The Journal of Food and Drug Analysis*, V. 23, n° 2, (June 2015), 243–52.

425. Herranz, B., Fernández-Jalao, I., Dolores Álvarez, M., Quiles, A., Sánchez-Moreno, C., Hernando, I., et al., “Phenolic compounds, microstructure and viscosity of onion and apple products subjected to in vitro gastrointestinal digestion”, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, V. 51, (January 2019), 114–25.

426. Corell, L., Armenta, S., Esteve-Turrillas, F.A. and de la Guardia, M., “Flavonoid determination in onion, chili and leek by hard cap espresso extraction and liquid chromatography with diode array detection”, *Microchemical Journal*, V. 140, (July 2018), 74–9.

427. Cheng, A., Chen, X., Jin, Q., Wang, W., Shi, J. and Liu, Y., “Comparison of

phenolic content and antioxidant capacity of red and yellow onions”, *Czech Journal of Food Sciences*, V. 31, n° 5, (September 2013), 501–8.

428. Kapoulas, N., Koukounaras, A. and Ilić, Z.S., “Nutritional quality of lettuce and onion as companion plants from organic and conventional production in north Greece”, *Scientia Horticulturae*, V. 219, (May 2017), 310–8.

429. Albishi, T., John, J.A., Al-Khalifa, A.S. and Shahidi, F., “Antioxidative phenolic constituents of skins of onion varieties and their activities”, *Journal of Functional Foods*, V. 5, n° 3, (July 2013), 1191–203.

430. Qiu, Y., Liu, Q. and Beta, T., “Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids”, *Food Chemistry*, V. 121, n° 1, (July 2010), 140–7.

431. Park, S.Y., Kim, J.K., Lee, S.Y., Oh, S.D., Lee, S.M., Jang, J.S., Yang C.I., Won, Y.J., Yeo, Y., “Comparative analysis of phenolic acid profiles of rice grown under different regions using multivariate analysis”, *Plant Omics Journal*, V. 7, n° 6, (December 2014), 430-437.

432. Karamać, M., Amarowicz R., Weidner S., Abe S. and Shahidi F., “Antioxidant activity of rye caryopses and embryos extracts”, *Czech Journal of Food Sciences*, V. 20, n° 6, (November 2011), 209-214.

433. Andreasen, M.F., Christensen, L.P., Meyer, A.S. and Hansen, A., “Content of phenolic acids and ferulic acid dehydrodimers in 17 rye (*Secale cereale* L.) varieties”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, V. 48, n° 7, (July 2000), 2837-42.

434. Embuscado, M.E., “Spices and herbs: Natural sources of antioxidants – a mini review”, *Journal of Functional Foods*, V. 18, (October 2015), 811–9.

435. Dimitrios, B., “Sources of natural phenolic antioxidants”, *Trends in Food Science & Technology*, V. 17, n° 9, (September 2006), 505-512.

436. Archivio, M.D., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C. and Masella, R., “Polyphenols, dietary sources and bioavailability”, *Annali dell’Istituto Superiore di Sanità*, V. 43, n° 4, (October 2007), 348-361.

437. Schieber, A., Stintzing, F.C. and Carle, R., “By-products of plant food processing as a source of functional compounds — recent developments”, *Trends in Food Science & Technology*, V. 12, n° 11, (November 2001), 401–413.

438. Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Núñez, M.J. and Carlos, Parajó J., “Natural antioxidants from residual sources”, *Food Chemistry*, V. 72, n° 2, (February 2001), 145-171.
439. Oliveira, L.D.L.D., Carvalho, M.V.D. and Melo, L., “Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food, *Revista Ceres*”, *Journal of Food Science and Technology*, V. 61, (December 2014), 764-779.
440. Ahmed, I.A., Mikail, M.A., Bin Ibrahim, M., Bin Hazali, N., Rasad, M.S.B.A., Ghani, R.A.R., Wahab, R.A., Arief, S.J. and Yahya, M.N.A., “Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised *Baccaurea angulata* fruit”, *Food Chemistry*, V. 172, (April 2015), 778–787.
441. Velderrain-Rodríguez, G.R., Palafox-Carlos, H., Wall-Medrano, A., Ayala-Zavala, J.F., Chen, C.O., Robles-Sánchez, M., Astiazaran-Garcia, H., Alvarez-Parrilla, E. and González-Aguilar, G.A., “Phenolic compounds: their journey after intake”, *Food Function*, V. 5, n° 2, (November 2014), 189–197.
442. Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D.D., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., Liu, Q. and Tsao, R., “Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase”, *Food Chemistry*, V. 172, (April 2015a), 862–872.
443. Pradeep, P.M. and Sreerama, Y.N., “Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia”, *Food Chemistry*, V. 169, (February 2015), 455–463.
444. Oroian, M. and Escriche, I., “Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis, *Food Research International*, V. 74, (August 2015), 10–36.
445. Stanković, M.S., “Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts”, *Kragujevac Journal of Science*, V. 33, (2011), 63-72.
446. Singleton, V.L., Ross, J.A., “Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents”, *American journal of Enology and viticulture*, V. 16, (January 1965), 144-158.

447. L. Bellebcir, « Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales », Mémoire de Magister en Biodiversité et production végétale, Université Mentouri de Constantine, 2008.
448. Yang, Y. and Song, L.X., “Study on the Inclusion Compounds of Eugenol with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and Heptakis (2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrins”, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, V. 53, n° 1-2, (October 2005), 27-33.
449. Valderrama, A.C.S. and De, G.C.R., “Traceability of Active Compounds of Essential Oils in Antimicrobial Food Packaging Using a Chemometric Method by ATR-FTIR”, *American Journal of Analytical Chemistry*, V. 8, n° 11, (2017), 726-741.
450. Feigl, F. and Anger, V., “Spot Tests in Organic Analysis”, 7th Edition, Elsevier Science, Amsterdam, 1983. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-07233-X>
451. Ariga, G.G., Nandibewoor, S.T. and Chimatadar, S.A., “Oxidative degradation of antibacterial drug, methylparaben, by Mn<sup>VII</sup> in perchloric acid medium: A kinetic and mechanistic approach”, *Journal of the Indian Chemical Society*, V. 92, (May 2015), 1705-1714.
452. Guan, X.H., Chen, G.H. and Shang, C., “ATR-FTIR and XPS study on the structure of complexes formed upon the adsorption of simple organic acids on aluminum hydroxide”, *Journal of Environmental Sciences*, V. 19, n° 4, (January 2007), 438-443.
453. Trivedi, M., Branton, A., Trivedi, D., Shettigar, H., Bairwa, K. and Jana, S., “Fourier transform infrared and ultraviolet-visible spectroscopic characterization of biofield treated salicylic acid and sparfloxacin”, *Natural Products Chemistry & Research*, V. 3, n° 5, (2015), 1-6.
454. Clavijo, E., Menéndez, J.R. and Aroca, R., “Vibrational and surface-enhanced Raman spectra of vanillic acid”, *Journal of Raman Spectroscopy*, V. 39, n° 9, (September 2008), 1178-1182.
455. Armenta, S., de la Guardia, M., Namiesnik, J. and Valcarcel, M., “Green microextraction in analytical microextraction techniques”, ed., Bentham Science, (2015), pp. 3-27.
456. Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. and Corke, H., “Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer”, *Life Science*, V. 74, n° 17, (March 2004), 2157-2184.

457. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. and Jiméne, L., “Polyphenols: food sources and bioavailability. Polyphenols: food sources and bioavailability”, *The American Journal of Clinical Nutrition*, V. 79, n° 5, (May 2004), 727-747.
458. Shahidi, F. and Ambigaipalan, P., “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices; Antioxidant activity and health effects – A review”, *Journal of Functional Foods*, V. 18, (October 2015), 820-897.
459. Minatel, O., Borges, C.V., Ferreira, M.I., Gomez, H.A.G., Chen, C.-Y.O. and Lima, G.P.P., “Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability”, *Phenolic Compounds - Biological Activity*, (March 2017).
460. Crozier, A., Jaganath, I.B. and Clifford, M.N., “Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health”, *Natural Product Reports*, V. 26, n° 8, (2009), 1001-1043.
461. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A., Spencer, J.P.E., Tognolini, M., Borges, G. and Crozier, A., “Dietary (poly)phenolics in human health. Structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases”, *Antioxidants & Redox Signaling*, V. 18, n° 14, (May 2013), 1818-1892.
462. Seyoum, A., Asres, K. and El-Fiky, F.K., “Structure–radical scavenging activity relationships of flavonoids”, *Phytochemistry*, V. 67, n°18, (September 2006), 2058–2070.
463. Chen, D., Daniel, K.G., Kuhn, D.J., et al., “Green tea and tea polyphenols in cancer prevention”, *Frontiers in Bioscience*, V. 9, (2004), n° 1-3, 2618-2631.
464. Lorenzo, J.M. and Munekata, P.E.S., “Phenolic compounds of green tea; Health benefits and technological application in food”, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, V. 6, n° 8, (August 2016), 709-719.
465. Roleira, F.M.F., Tavares-da-Silva, E.J., Varela, C.L., et al., “Plant derived and dietary phenolic antioxidants: anticancer properties”, *Food Chemistry*, V. 183, (September 2015), 235-258.
466. Laughton, M.J., Evans, P.J., Moroney, M.A., Hoult, J.R.S. and Halliwell, B., “Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives. Relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability”, *Biochemical Pharmacology*, V. 42, n° 9, (October 1991), 1673-1681.

467. Frankel, E.N., German, J.B., Kinsella, J.E., Parks, E. and Kanner, J., "Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine", *Lancet*, V. 341, n° 8843, (February 1993), 454-457.
468. Orgogozo, J.M., Dartigues, J.F., Lafont, S., et al., "Wine consumption and dementia in the elderly: a prospective community study in the Bordeaux area", *Revue Neurologique (Paris)*, V. 153, n° 3, (April 1997), 185-192.
469. Puupponen-Pimia, R., Nohynek, L., Meier, C., et al., "Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries", *Journal of Applied Microbiology*, V. 90, n° 4, (April 2001), 494-507.
470. Balasundrama, N., Sundram, K. and Samman, S., "Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses", *Food Chemistry*, V. 99, n° 1, (January 2006), 191-203.
471. Mattila, P. and Hellström, J., "Phenolic acids in potatoes, vegetables, and some of their products", *Journal of Food Composition and Analysis*, V. 20, n° 3-4, (May 2007), 152-160.
472. Leopoldini, M., Marino, T., Russo, N., Toscano, M., "Antioxidant Properties of Phenolic Compounds: H-Atom versus Electron Transfer Mechanism", *The Journal of Physical Chemistry A*, V. 108, n°22, (May 2004), 4916–22.
473. Jing, P., Zhao, S.-J., Jian, W.-J., Qian, B.-J., Dong, Y. and Pang, J., "Quantitative Studies on Structure-DPPH• Scavenging Activity Relationships of Food Phenolic Acids", *Molecules*, V. 17, n°11, (November 2012), 12910–24.

**SPECIAL ISSUE ARTICLE**

# Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants

Nachida Bensemmane<sup>1</sup>  | Naima Bouzidi<sup>1</sup>  | Yasmina Daghbouche<sup>1</sup>  | Salvador Garrigues<sup>2</sup>  | Miguel de la Guardia<sup>2</sup>  | Mohamed El Hattab<sup>1</sup> 

<sup>1</sup>Laboratory of Natural Products Chemistry and of Biomolecules, Faculty of Science, University Blida 1, Blida, Algeria

<sup>2</sup>Department of Analytical Chemistry, University of Valencia, Burjassot, Valencia, Spain

**Correspondence**

Yasmina Daghbouche, Laboratory of Natural Products Chemistry and of Biomolecules, Faculty of Science, University Blida 1, P.O. Box 270, Blida, Algeria.  
Email: ydaghbouche@yahoo.fr

**Funding information**

National Research Foundation (DGRSDT); PRFU, Grant/Award Number: B00LO1UN090120180001-Algeria; National Research Foundation (DGRSDT) and PRFU, Grant/Award Number: B00LO1UN090120180001-Algeria

**Abstract**

**Introduction:** Phenolic compounds are ubiquitous compounds found in all plants as their secondary metabolites. Phenols are becoming increasingly important particularly because of their beneficial effects on health.

**Objective:** To provide a faithful calibration model for the simultaneous determination and quantification of phenolic acids, as salicylic, vanillic, *p*-hydroxybenzoic acids, eugenol and thymol in different extracts of medicinal plants, a comparative study was made between two methods of infrared measurements based on attenuated total reflectance (ATR) and transmission.

**Methods:** Characteristic absorbance peak heights of mid-infrared spectra of individual phenolic acids were measured for the compounds. For partial least squares regression (PLS-R) calibration mixtures of phenolic acids, wavenumber ranges, spectra pretreatment and number of latent variables, were assayed to improve the prediction capability of models using different spectral preprocessing techniques after mean centring of infrared data. Plant extracts were prepared by using water/methanol and ethanolic extraction solvents followed by Fourier-transform infrared (FTIR)-spectrometry analysis. The concentrations of phenolic compounds contained in the extracts were obtained by using the best models selected of the PLS calibration.

**Results:** PLS-ATR-mid-infrared (MIR) measurement provided the most accurate results and offers a good methodology for the determination of phenolic acids. The analysis showed that the rate of phenolic acids and monoterpenic phenols in extracts of medicinal plants is in the same range obtained with the Folin-Ciocalteu method, which confirm that the developed method using PLS is therefore, highly specific and selective.

**Conclusion:** The simultaneous direct quantification of various phenolic acids in different plant extracts was possible with a fast and simple methodology based on PLS-ATR-FTIR analysis.

**KEYWORDS**

ATR-FTIR spectroscopy, medicinal plant extracts, monoterpenic phenols, partial least squares (PLS) regression, phenolic acids

## 1 | INTRODUCTION

Phenolic compounds include simple phenols, phenolic acids (hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids derivatives as *p*-hydroxybenzoic, vanillic, protocatechuic acids, etc.), monoterpene phenols (like eugenol and thymol), flavonoids, isoflavonoids, coumarins, stilbene, lignans, lignins, condensed tannins and naphthoquinones are bioactive substances widely occurring in food plants.<sup>1–5</sup> More than 8000 phenolic structures have been reported and they are widely dispersed throughout the plants. They are synthesised by the shikimate, polyketide, and mevalonate pathways or mixed pathways, which produce a large variety of plant phenols. In the late twentieth century, the interest in food phenolics has increased due to their antioxidant and free radical-scavenging abilities,<sup>6</sup> anti-inflammation, modulation of signal transduction, anti-microbial, and anti-proliferation activities.<sup>7</sup> Polyphenols may exert an indirect antioxidant effect, by protecting endogenous antioxidant enzymes in the human body.<sup>8–10</sup> A lot of work has been carried out to optimise the phenols extraction process, in particular, the solvents to improve the extraction of phenols from natural substances.<sup>11,12</sup> Review articles have been published on the chemical and structural properties of many phenolics families, correlating them with their biological properties and the way they are expressed after consumption in a daily basis of fruits, vegetables, beverages, red wine, and even chocolate.<sup>13–18</sup>

Several analytical techniques have been proposed for the quantification of phenolic acids, including thin-layer chromatography, gas-liquid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and capillary electrophoretic methods. However, high-performance liquid chromatography (HPLC) is nowadays the most widely used quantification method.<sup>19–35</sup> HPLC and GC-MS methods have been used to identify and quantify terpenes and phenolic acids in herbs,<sup>36</sup> rice,<sup>37</sup> juice,<sup>38</sup> in rosemary,<sup>39,40</sup> honey,<sup>41,42</sup> wines,<sup>43</sup> oregano,<sup>44,45</sup> herbal medicines,<sup>46</sup> olive oil, and prune.<sup>47,48</sup> Mid-infrared (MIR) spectral profile of phenolic compounds has been determined only in a few studies. In a qualitative study, rosmarinic acid has been analysed in *Lavandula officinalis* culture suspensions by using MIR spectroscopy as a new tool.<sup>49</sup> In the same way, the icariin (flavonol glycoside) has been identified in *Herba epimedii* (traditional Chinese medicine) by comparing MIR spectra. The correlation value, representing the similarity of two spectra of an herbal sample and the standard phenolic compound could be used as a screening criterion for the plants.<sup>50</sup> Five natural products used in wound healing to prevent infection are studied. The Fourier-transform infrared (FTIR) analysis revealed the presence of phenolic compounds in the alcoholic extracts.<sup>51</sup> Spectral data of attenuated total reflectance-Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy and Fourier-transform infrared microspectroscopy (FTIRM) allowed the simultaneous evaluation of the protective effect of different polyphenols, results obtained were compared to standard lipid peroxidation techniques.<sup>52</sup>

A quantitative study by using MIR spectroscopy to determine keracyanin (anthocyanin) content in sweet cherries has been discovered. The band between 1640 and 1630  $\text{cm}^{-1}$  was used for the

quantification of the flavonoid.<sup>53</sup> Near-infrared (NIR) and MIR spectroscopic techniques have been widely used for routine analysis of phenolic compounds in grape and wines industries. MIR and ATR spectral data with the application of chemometrics techniques have been used to study phenolic compounds and to elucidate particular compositional characteristics associated with phenolic compounds in grapes and wine samples which are not easily detected by traditional targeted chemical analysis.<sup>54</sup> The prediction of phenolic compounds in honey was performed by ATR-FTIR and Raman spectroscopy combined with partial least square regression (PLS-R). The results of combined data, both Raman and FTIR showed satisfactory prediction capacity.<sup>55</sup>

The reference method used for the determination of phenols is the Folin-Ciocalteu method based on the colour produced during the oxidation of phenols in a mixture of blue oxides of tungsten and molybdenum.<sup>56–60</sup> The band between 725 and 750 nm is proportional to the number of polyphenols present in the plant extracts. The content of total polyphenols is established by comparison with the absorbance signal obtained for an external calibration using gallic acid as standard. The Folin-Ciocalteu assay is simple to use and very sensitive. However, it is not specific for polyphenols being interfered with by the amino acids tyrosine and tryptophan, proteins, reducing sugars, like glucose and fructose, ascorbic acid, tartaric acid, and sulphites. Additionally, the standard considered does not represent the entire class of phenols (being thus a semi-quantitative method just applied for comparative purposes). The PLS-R for the linear model applies to the field of application where there are few observations on highly correlated variables and in very large numbers; this is the pathological case of linear regression, where the usual methods do not work (being extremely small we cannot tend towards infinity).<sup>61–63</sup>

This study constitutes a contribution in the broad field of methods, developments, and analysis by infrared spectroscopy. In this work, we have proposed a comparative study between two spectroscopy methods ATR-FTIR dry film, transmission-FTIR measurements by univariate and multivariate calibration strategies for the simultaneous determination of salicylic, vanillic, *p*-hydroxybenzoic acids, eugenol and thymol in different extracts of medicinal plants (clove, cinnamon, oregano, rosemary, and thyme). ATR infrared spectra were obtained directly from samples inside glass vials with pure ethanol (EtOH) without any additional treatment neither the use of any reagent, thus providing a green methodology.

## 2 | EXPERIMENTAL

### 2.1 | Apparatus and software

A JASCO FT/IR-4000 series spectrometer (Lisses, France), equipped with a temperature-stabilised deuterated triglycinesulphate (DLATGS) detector and a KBr beam splitter, was employed for transmission measurement in the spectral range from 4000 to 500  $\text{cm}^{-1}$ , with a resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$ . A DULCO-DF2a (Heidelberg, Germany) was used with

a peristaltic pump to fill a flow cell with a 1 mm path length equipped with BaF<sub>2</sub> windows. An FTIR spectrometer, model Tensor 27 from Bruker (Bremen, Germany) was used for ATR dry film measurements. It was equipped with a DLATGS detector, 1 µL sample extracts were dried over the diamond ATR crystal of a nine-reflection Dura Sample IR II accessory for liquids from Smiths Detection Inc. (Warrington, UK). The Opus 6.5 software, from Bruker, was used for instrument control and data treatment. Univariate and multivariate calibrations were made using Quant1 and Quant2, applications.

## 2.2 | Reagents

Multisolvant analytical grade dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) stabilised with 50 ppm of amylene from Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Munich, Germany) and absolute EtOH, from VWR International (Fontenay-sous-Bois, France), were employed for standard and sample preparation. Standards of salicylic acid, 99% purity, *p*-hydroxybenzoic acid, 99% purity, vanillic acid, purity 98%, eugenol, 98% purity, thymol, 99% purity were provided by Sigma-Aldrich.

## 2.3 | Standard solutions

For univariate calibration, individual solutions containing salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acids, vanillic acid, eugenol, and thymol were prepared in a concentration range until 10 mg/mL, using a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) for transmission measurements and EtOH for ATR dried film measurements.

To build the PLS models an experimental design of 4<sup>2</sup> standards covering different mixtures of the four considered compounds belonging to different classes (hydroxybenzoic acids and mono-terpenic phenols) at high and low concentration levels were used. Thymol was prepared at a concentration of 0.4 and 4 mg/mL, eugenol at 0.3 and 3 mg/mL, salicylic acid at 0.2–2 mg/mL and *p*-hydroxybenzoic acid at 0.1 and 1 mg/mL and 16 standard solutions were prepared from the four stock solutions of each compound. However, PLS models for the mixture of hydroxybenzoic acids, an experimental design of 3<sup>2</sup> was used including “up” and “low” limits of the concentrations. Salicylic acid was prepared at concentration levels of 0.4 and 4 mg/mL, *p*-hydroxybenzoic acid at 0.3 and 3.0 mg/mL and vanillic acid at 0.2 and 2.0 mg/mL employing CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) or pure EtOH for transmission and ATR measurements, respectively.

## 2.4 | Determination of total phenolic content

Total phenolic content was determined by the Folin–Ciocalteu method.<sup>64</sup> Briefly, 200 µL of diluted samples were added to 1 mL of 1:10 diluted Folin–Ciocalteu reagent. After 4 min, 12 mL of saturated sodium carbonate solution at 2% was added. After 2 h of incubation at room temperature, the absorbance at 765 nm was measured. Gallic

acid (5–200 mg/L) was used for calibration of the standard curve. The results were expressed as milligram gallic acid equivalent (mg GAE) per gram of dry weight of plant material.

## 2.5 | Plant extracts

The collected plant material, that was *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Salvia Rosmarinus*, *Cinnamomum cassia* and *Syzygium aromaticum* (Clove) were purchased from the local market in (Blida, Algeria) and (Valencia, Spain), was air-dried in the dark at room temperature (20°C), the dried plants were cut up and stored in dark, well-tightened containers until use. Macerating 30 g of dry plants clove, cinnamon, oregano, rosemary, and thyme in water/methanol at equal volume during 72 h, followed by filtration through Whatman paper and rotary dry evaporation at 45°C and storage of the extract in the refrigerator at 4°C. The ethanolic extracts of thyme, oregano, and rosemary, were prepared by macerating 0.5 g of dry plants in 2 mL of EtOH for 72 h and storage of the extract until analysis. The water/methanol extracts were analysed by transmission-FTIR and the ethanolic extracts were analysed by ATR-FTIR.

## 2.6 | Transmission measurement

Transmission-FTIR spectra were recorded between 4000 and 500 cm<sup>-1</sup> with a nominal resolution of 4 cm<sup>-1</sup>, accumulating 25 scans per spectrum. A background of the cell, filled with the CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) solvent employed for sample preparation, was measured in the same conditions as samples and standards. Each solution was measured five times.

## 2.7 | ATR dry film measurement

Briefly, 1 µL of standards and samples were placed on the ATR crystal surface. EtOH was left to evaporate with airflow. After solvent evaporation, spectra were registered between 4000 and 550 cm<sup>-1</sup>, with a resolution of 4 cm<sup>-1</sup> averaging 50 scans in front of a clean and empty background of the cell obtained in the same instrumental conditions, being obtained three spectra for two independent solution aliquots. After measuring each sample portion, the ATR crystal was cleaned with EtOH and a soft cellulose paper, checking that the baseline was recovered after cleaning and before the introduction of another sample.

## 2.8 | Data treatment

Univariate calibration was obtained for each compound after selecting their characteristics bands. Peak height or peak area measurements were corrected with an adequate baseline.

Multivariate PLS analysis was performed using mixtures of considered compounds. Different ranges for both transmission-FTIR and ATR-FTIR spectra were tried using different spectral data processing as mean centring constant offset elimination, straight-line subtraction, first- and second-order derivative, and first derivative plus straight-line subtraction. The coefficient of correlation for calibration ( $R^2_{Cal}$ ), cross-validation ( $R^2_{CV}$ ) and prediction ( $R^2_{pred}$ ) and the root mean square error of calibration (RMSEC), cross-validation (RMSECV) and prediction (RMSEP), were used to evaluate the performance of PLS models.

### 3 | RESULTS AND DISCUSSION

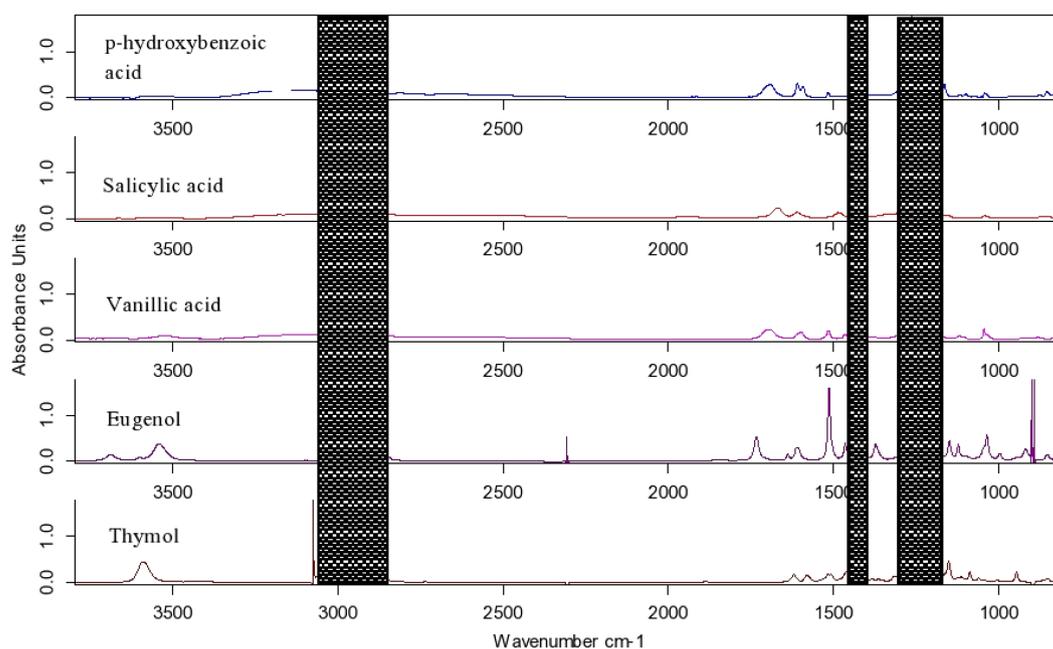
#### 3.1 | FTIR spectra of phenolic compounds and monoterpenic phenols

Figure 1 shows the transmission spectra of compounds considered in this study obtained in a  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  (90:10 v/v) solvent. Due to the absorbance of the solvent mixture employed, spectra present saturation regions below  $775\text{ cm}^{-1}$  and from  $1015\text{ cm}^{-1}$  to  $1060\text{ cm}^{-1}$ ,  $1240\text{--}1280\text{ cm}^{-1}$ ,  $1237\text{--}1293\text{ cm}^{-1}$  and  $2825\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$ . The FTIR spectrum of eugenol showed its signature peaks in the  $919\text{--}1265\text{ cm}^{-1}$  region corresponding to  $\text{C}=\text{C}$ . In addition, peaks at  $1638\text{ cm}^{-1}$ ,  $1609\text{ cm}^{-1}$ , and  $1512\text{ cm}^{-1}$  were also found from eugenol due to  $\text{C}=\text{C}$  stretching of the aromatic moiety.<sup>65,66</sup> For thymol spectrum, intense bands at  $1158\text{ cm}^{-1}$ ,  $1090\text{ cm}^{-1}$ ,  $943\text{ cm}^{-1}$  and  $804\text{ cm}^{-1}$  were seen.<sup>67</sup> Salicylic and *p*-hydroxybenzoic acids present intense bands at  $1735\text{ cm}^{-1}$ , which correspond to the elongation of

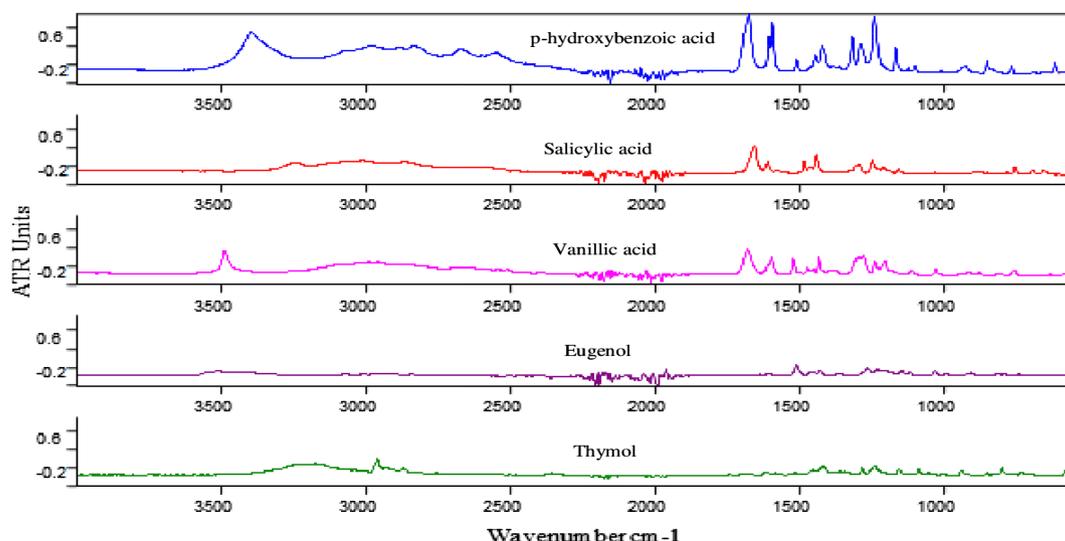
the  $\text{C}=\text{O}$  bond and two other average bands at  $1240$  and  $1170\text{ cm}^{-1}$  which represent the elongation of the  $\text{COC}$  bonds, a band at  $1635\text{ cm}^{-1}$  indicating an elongation of the group  $\text{C}=\text{C}$  of an alkene, two intense bands at  $1600\text{ cm}^{-1}$  and  $1515\text{ cm}^{-1}$  displays the elongation of the aromatic group ( $\text{C}=\text{C}$ ), phenolic  $-\text{OH}$  stretching peak at  $1595\text{ cm}^{-1}$ , peak at  $3440\text{ cm}^{-1}$  corresponding to carboxylic acid,<sup>68</sup> peaks ranging from  $1160\text{ cm}^{-1}$  to  $1240\text{ cm}^{-1}$  and at  $1240\text{ cm}^{-1}$  (intense) represent the elongation of the  $\text{C}-\text{O}$  bond of the three acids, the range of  $1380$  to  $1465\text{ cm}^{-1}$  represent characteristic bands at the deformation of the groups  $\text{CH}$ ,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_3$  and at rings,<sup>69,70</sup> and peaks at  $880$  to  $850\text{ cm}^{-1}$  shows the elongation tri- and para-substituted aromatic rings, respectively.

Peaks at  $1120\text{ cm}^{-1}$  and  $918\text{ cm}^{-1}$  indicate the elongation of the  $\text{C}-\text{O}$  bond of the specific ether of vanillic acid,<sup>71</sup> and peaks at  $880$  to  $850\text{ cm}^{-1}$  refer to the tri- and para-substituted aromatic rings, respectively. ATR dry film spectra of considered compounds are shown in Figure 2. As compared with the transmission spectra, it is noticeable that there are no saturated signals due to the solvent, and just a noisy region observed between  $2250$  and  $1900\text{ cm}^{-1}$  due to the high absorbance of the diamond surface of the ATR accessory. As can be seen, the same characteristic bands of the three compounds appear on both, that compares the transmission and ATR spectra, but in the latter case, an improved resolution of the standards was observed. Figure 3 compares transmissions and ATR infrared spectra of a mixture with a concentration of  $1.00$ ,  $1.20$ , and  $0.60\text{ mg/mL}$  for salicylic, *p*-hydroxybenzoic, and vanillic acid, respectively.

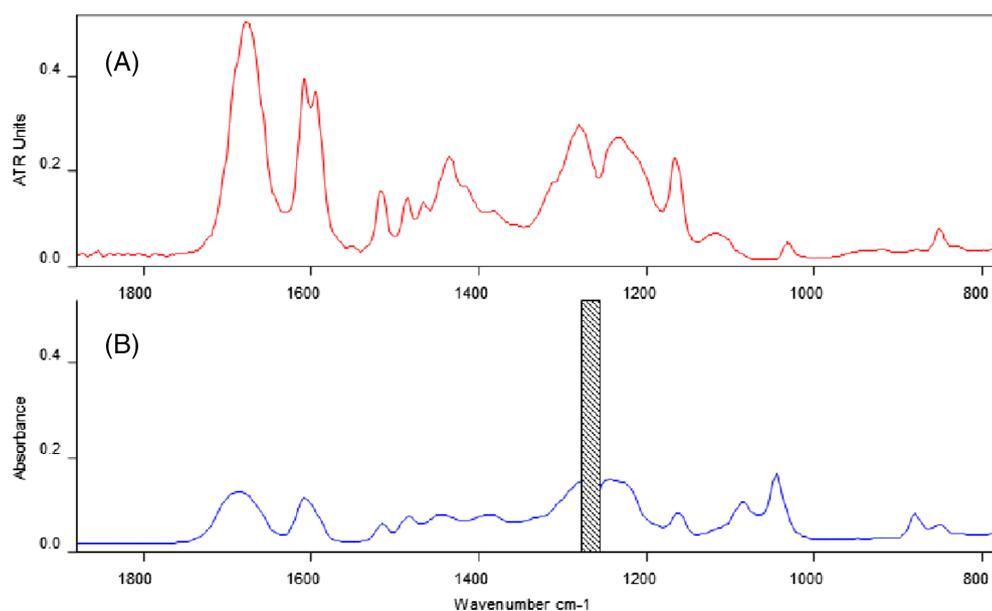
ATR dry film spectra provide increased sensitivity and resolution as compared to transmission spectra. It is noticeable that there are no saturated signals due to the solvent and just a noisy region between



**FIGURE 1** Transmission-FTIR spectra of salicylic acid, vanillic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, thymol and eugenol standards at a concentration of  $5\text{ mg/mL}$  for each compound in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  (90:10 v/v). Spectra were obtained by accumulating 25 scans with a spectral resolution of  $4\text{ cm}^{-1}$  [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](#)]



**FIGURE 2** ATR-FTIR spectra of salicylic acid, vanillic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, thymol and eugenol standards at a concentration of 5 mg/mL for each compound. Spectra were obtained by accumulating 50 scans with a spectral resolution of 4 cm<sup>-1</sup> from the dry film formed by evaporation of 1 μL of each solution [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]



**FIGURE 3** Spectra of a synthetic mixture of 1.00, 1.20 and 0.60 mg/mL for salicylic, *p*-hydroxybenzoic and vanillic acid, respectively, measured by ATR after drying 1 μL of an EtOH solution (A) and by transmission in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v) (B). Spectra were obtained by accumulating 50 scans for ATR and 25 scans for transmission with a spectral resolution of 4 cm<sup>-1</sup> [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

2250 to 1900 cm<sup>-1</sup> due to the absorbance of the diamond ATR. As can be seen, the same characteristic bands of the four compounds appear for both, transmission and ATR spectra, but in the latter case, a better resolution of the measurements was observed.

### 3.2 | Univariate calibration

Calibration curves obtained for the determination of each one of the compounds studied were obtained by using peak height, with baseline correction by both transmission and ATR dry film measurements. From the slope of the calibration lines obtained by simple mean square regression with ATR dry film at specific frequencies, it was

obtained a sensitivity for the determination of salicylic, vanillic and *p*-hydroxybenzoic acids, eugenol and thymol from 0.048 until 0.27 a.u. mL/mg at 1658 cm<sup>-1</sup>, 1687 cm<sup>-1</sup>, 1676 cm<sup>-1</sup>, 1514 cm<sup>-1</sup>, and 1090 cm<sup>-1</sup>, respectively, were calculated (data are shown in Table 1). Table 1 also shows the figures of merit of the calibration lines established from transmission FTIR measurements. As can be seen, these calibrations provided sensitivity values from 0.042 until 0.2342 a.u. mL/mg less sensitive than those based on ATR except for eugenol determination.

However, the limit of detection (LOD) ATR provide measurements from 11 to 23 μg/mL and transmission measurements from 44 to 261 μg/mL, which are clearly worsened due to the effect of solvents and the use of a sensitive ATR crystal of nine-reflections.

**TABLE 1** Analytical parameters obtained for univariate FTIR determination of salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol and thymol by transmission measurement in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10) and ATR-FTIR in pure ethanol

	Compound	Frequency peak height (cm <sup>-1</sup> )	Linear concentration domain (mg/mL)	Calibration lines	Correlation coefficient (R)	LOD <sup>a</sup> (µg/mL)	RSD <sup>b</sup> %
Transmission	Salicylic acid	1658	0.1 to 10	A = 0.05341C - 0.0145	0.9995	44	1.1
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1676	0.3 to 10	A = 0.06785C - 0.0954	0.9995	212	4.9
	Eugenol	1514	0.5 to 10	A = 0.23426C + 0.0357	0.9997	261	1.7
	Thymol	1090	0.5 to 10	A = 0.04248C + 0.0014	0.9994	141	1.8
	Vanillic acid	1687	0.2 to 10	A = 0.04536C - 0.0294	0.9995	55	1.6
ATR	Salicylic acid	1658	0.25 to 10	A = 0.12473C - 0.0011	0.9997	11	3.8
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1676		A = 0.27103C + 0.0102	0.9999	21	1.1
	Eugenol	1514		A = 0.04822C - 0.0347	0.9995	20	1.8
	Thymol	1090		A = 0.04902C + 0.0136	0.9995	23	4.2
	Vanillic acid	1687		A = 0.11474C - 0.0311	0.9999	15	1.1

<sup>a</sup>LOD: limit of detection.

<sup>b</sup>RSD: relative standard deviation.

<sup>a</sup>The C values are in mg/mL in all cases. The LOD was established for a *k* level of 3 and is expressed in µg/mL. For ATR-FTIR measurement, individual solutions containing salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol were prepared in a concentration to 10 mg/mL, using as solvent pure ethanol. For transmission measurement, individual solutions containing salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol were prepared in a concentration to 10 mg/mL, using as solvent a mixture of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/EtOH (90:10 v/v).

### 3.3 | Analysis of synthetic samples using the univariate calibration

Tables 2 show that the error rates obtained are very high, as compared to the normal tolerated (tolerance between 1 and 5%), these

results were expected given that no standard can represent the mixture hence the limitations of the univariate calibration which can be useful during a single-component assay or when the standard is in the majority. In this case, multivariate calibration is needed for the determination of the compounds within a mixture at different proportions.

**TABLE 2** Analysis of synthetic samples by MIR-transmission and MIR-ATR measurements

Measurement mode	Synthetic mixtures	Add (mg/mL)	Found (mg/mL)	Error rate (%)
MIR-transmission	Salicylic acid	0.6	1.25	108
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	2.0	2.54	26.8
	Vanillic acid	3.0	3.93	31.2
	Salicylic acid	0.5	0.17	-65.6
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	0.6	0.08	-85.9
	<i>trans</i> -Cinnamic acid	0.7	0.06	-90.6
	<i>p</i> -Coumaric acid	0.8	0.08	-89.6
MIR-ATR	Salicylic acid	1.0	1.88	88.0
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	1.5	2.14	42.7
	Vanillic acid	1.4	0.64	-54.3
	Salicylic acid	0.5	0.98	96.0
	<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	0.6	0.31	-48.3
	Eugenol	0.7	0.21	-70.0
	Thymol	0.8	0.42	-47.5

### 3.4 | PLS calibration of mixtures of phenolic acids by transmission measurements

#### 3.4.1 | PLS calibration of mixtures of phenolic acids of the same class

It has been explored the possibility to use a reduced set of standards considering an experimental design of  $3^2$  (three compounds at two concentration levels) to model PLS on the FTIR data of mixtures of salicylic, *p*-hydroxybenzoic and vanillic acids. The following spectral regions at 1765–1565  $\text{cm}^{-1}$ , 1566–1354  $\text{cm}^{-1}$ , 1176–1139  $\text{cm}^{-1}$  and 892–845  $\text{cm}^{-1}$ , for transmission FTIR measurements, and spectral ranges between 1852–1586  $\text{cm}^{-1}$ , 1584–1239  $\text{cm}^{-1}$ , 1240–893  $\text{cm}^{-1}$  and 895–550  $\text{cm}^{-1}$  for ATR-FTIR were used employing offset correction, subtraction of a straight line first derivative and second derivative

as spectra pre-processing. The best models were established for each compound taking into consideration the predictive capability of the model for a set of mixtures of the three compounds (shown in Table 3). Results found are indicated in Table 4 displaying the conditions and analytical features for the best models of the set of five samples with concentrations of salicylic acid from 0.57 to 3.06, *p*-hydroxybenzoic acid from 0.7 to 2.26 and vanillic acid from 0.38 to 1.23.

#### 3.4.2 | PLS calibration of mixtures of phenolic acids of different classes

A reduced set of  $4^2$  standards, corresponding to the four considered compounds at two different concentration levels, was designed as

**TABLE 3** Characteristics of PLS models based on the use of transmission spectra for the prediction of samples containing from 0.57 to 3.06 of salicylic acid, from 0.7 to 2.26 for *p*-hydroxybenzoic acid and from 0.38 to 1.23 of vanillic acid

Compound	Spectral treatments	Selected models	Spectral regions ( $\text{cm}^{-1}$ )	LV	RMSEC (mg/mL)	$R^2_{\text{Cal}}$	RMSECV (mg/mL)	$R^2_{\text{CV}}$	RMSEP (mg/mL)	$R^2_{\text{Pred}}$
Salicylic acid	Second derivative	<b>Mod.1</b>	15661354 892–845	4	0.076	99.84	0.193	98.85	0.195	94.61
		<b>Mod.2</b>	1566–1354	3	0.0637	99.89	0.175	99.05	0.182	95.28
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Second derivative	<b>Mod.3</b>	1176–1139 892–845	4	0.0916	99.6	0.134	99.02	0.104	96.67
Vanillic acid	First derivative + subtraction of a line	<b>Mod.4</b>	1566–1354 1176–1139	7	0.0389	99.85	0.166	96.59	0.173	62.80

Note: Root means square error of calibration (RMSEC), cross-validation (RMSECV) and prediction (RMSEP), LV (latent variable). The selected models in bold are the best models that were used for external quantification of plant extracts in Table 10.

**TABLE 4** PLS selected models for calibration and prediction of the best models for the series of five additional samples with concentrations of salicylic acid from 0.57 to 3.06, *p*-hydroxybenzoic acid from 0.7 to 2.26 and vanillic acid from 0.38 to 1.23 by transmission measurements in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{EtOH}$  (90:10)

Compound	Selected models	Spectral treatments	Spectral regions ( $\text{cm}^{-1}$ )	LV	RMSEC (mg/mL)	$R^2_{\text{Cal}}$	RMSECV (mg/mL)	$R^2_{\text{CV}}$	RMSEP (mg/mL)	$R^2_{\text{Pred}}$
Salicylic acid	<b>Mod.1</b>	First derivative	16871605	5	0.034	99.89	0.049	99.7	0.229	98.39
	Mod.2	Second derivative	1687–1605 1473–1352	7	0.083	99.38	0.197	95.2	0.197	95.22
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	<b>Mod.3</b>	Subtraction of line	1687–1605 1473–1352	7	0.062	98.56	0.161	86.7	0.295	95.23
	Mod.4	First derivative	1687–1605 1473–1352	7	0.067	98.32	0.391	91.3	0.391	91.63
Eugenol	<b>Mod.5</b>	Second derivative	1687–1605	4	0.322	95.26	0.508	85.8	0.268	71.78
	Mod.6		1473–1352	3	0.388	92.86	0.584	81.3	0.215	81.84
Thymol	<b>Mod.7</b>	Subtraction of line	1687–1605 1473–1352 908–856	2	1.30	51.45	1.56	21.7	0.449	56.77

Note: Root means square error of calibration (RMSEC), cross-validation (RMSECV) and prediction (RMSEP), LV (latent variable). The selected models in bold are the best models that were used for external quantification of plant extracts in Table 10.

**TABLE 5** Characteristics of PLS models based on the use of ATR measurements on dry film spectra for the prediction of samples containing from 0.57 to 3.06 of salicylic acid, from 0.7 to 2.26 for *p*-hydroxybenzoic acid and from 0.38 to 1.23 of vanillic acid represented by mod.1, mod.2 and mod.3 and for the prediction of a new series of samples containing from 0.61 to 3.02 salicylic acid, from 1.11 to 2.21 for *p*-hydroxybenzoic acid and from 0.4 to 1.43 for vanillic acid represented by mod.4, mod.5 and mod.6, being the increase of concentration of the three considered compounds different in each concentration

Compound	Selected models	Spectral treatments	Spectral regions (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg/mL)	R <sup>2</sup> <sub>CV</sub>	RMSECV (mg/mL)	R <sup>2</sup> <sub>Cal</sub>	RMSEP (mg/mL)	R <sup>2</sup> <sub>Pred</sub>
Salicylic acid	Mod.1	Offset correction	895–550	5	0.231	98.47	0.336	96.23	0.545	57.82
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Mod.2	No pretreatments	1240–550	3	0.341	94.15	0.624	78.48	0.346	63.22
Vanillic acid	Mod.3	No pretreatments	1240–550	4	0.083	99.09	0.145	96.9	0.186	56.58
Salicylic acid	Mod.4	First derivative	1852/1586 1240–550	4	0.268	97.88	0.297	97.06	0.131	95.81
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Mod.5	Vector standardisation	1852–1238 895–550	6	0.173	98.61	0.193	97.94	0.160	71.21
Vanillic acid	Mod.6	Offset correction	1240–893	4	0.154	96.88	0.171	95.69	0.111	91.05

Note: Root means square error of calibration (RMSEC), cross-validation (RMSECV) and prediction (RMSEP), LV (latent variable). The selected models in bold are the best models that were used for external quantification of plant extracts in Table 10.

**TABLE 6** Comparison between real concentrations of synthetic samples and data obtained by PLS-FTIR transmission and PLS-ATR-FTIR by applying mod.1, mod.2 and mod.3 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, and vanillic acid, respectively, shown in Table 3, and mod.1, mod.2 and mod.3 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid and vanillic acid, respectively, shown in Table 5

Sample	Salicylic acid (mg/mL)			<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid (mg/mL)			Vanillic acid (mg/mL)		
	Found			Found			Found		
	Theoretic	Transmission	ATR	Theoretic	Transmission	ATR	Theoretic	Transmission	ATR
M1	0.57	0.70 ± 0.01 (22%)	0.60 ± 0.16 (5.3%)	0.70	0.80 ± 0.03 (14%)	0.70 ± 0.15 (0.0%)	0.38	0.30 ± 0.01 (-21%)	0.50 ± 0.06 (31%)
M2	1.06	1.10 ± 0.03 (3.7%)	1.20 ± 0.09 (13%)	1.21	1.20 ± 0.03 (-3.0%)	1.30 ± 0.17 (7.6%)	0.59	0.40 ± 0.04 (-32%)	0.70 ± 0.05 (18%)
M3	1.40	1.40 ± 0.03 (0.0%)	1.40 ± 0.36(0.0%)	1.53	1.50 ± 0.03 (-2.2%)	1.4 ± 0.3 (-8.6%)	0.79	0.90 ± 0.01 (13%)	0.80 ± 0.17 (1.3%)
M4	2.00	1.90 ± 0.02 (-5.14%)	1.90 ± 0.37 (-5.1%)	1.86	1.80 ± 0.03 (-3.0%)	1.8 ± 0.3 (-3.0%)	1.04	1.20 ± 0.02 (15%)	1.00 ± 0.05 (-4.0%)
M5	3.06	2.80 ± 0.02 (-8.5%)	2.40 ± 0.27 (-21.5%)	2.26	2.20 ± 0.01 (-2.8%)	2.20 ± 0.24 (-2.8%)	1.23	1.30 ± 0.01 (6.0%)	1.10 ± 0.06 (-10%)

Note: mean values ± standard deviation. Values between parentheses correspond to relative error.

indicated in the experimental part, being also evaluated for different data preprocessing as offset correction, subtraction of a straight line, first derivative and second derivative. Spectral regions at 1687–1605  $\text{cm}^{-1}$ , 1473–1352  $\text{cm}^{-1}$  and 908–856  $\text{cm}^{-1}$  were assayed for transmission FTIR measurements (see Table 4). The best models were chosen taking into consideration the predictive capability for a set of mixtures of the four compounds.

The high linear regression coefficients associated with low RMSEP and RMSECV testify to the robustness of the constructed models.

### 3.5 | PLS calibration of mixtures of phenolic acids of the same class by ATR measurements

The same study was made for the ATR measurements and the best models were established for each compound taking into consideration the predictive capability of the model for a set of mixtures of the three compounds (see Table 5). From data reported in the mentioned tables, it can be concluded that transmission data provided the best prediction capability. However, it must be noticed that on all the five predicted samples the concentrations

**TABLE 7** PLS selected models of phenolic acids of different classes by ATR-FTIR using dry film

Compound	Selected models	Spectral treatments	Spectral regions ( $\text{cm}^{-1}$ )	LV	RMSEC (mg/mL)	$R^2_{\text{Cal}}$	RMSECV (mg/mL)	$R^2_{\text{CV}}$	RMSEP (mg/mL)	$R^2_{\text{Pred}}$
Salicylic acid	<b>Mod.1</b>	No treatments	895–550	2	0.181	96.12	0.185	95.79	0.130	85.46
	Mod.2			3	0.120	98.30	0.128	97.98	0.200	65.65
	Mod.3	Offset correction	895–550	2	0.183	96.02	0.188	95.65	0.141	83.03
	Mod.4			3	0.147	97.48	0.156	97.01	0.200	65.60
	Mod.5			4	0.133	97.95	0.142	97.52	0.203	64.62
	Mod.6	Subtraction of line	1586550	2	0.213	94.60	0.220	94.01	0.151	80.35
	Mod.7			3	0.170	69.61	0.183	95.88	0.207	63.15
p-hydroxybenzoic acid	Mod.8	Second derivative	1586–1238 895–550	2	0.177	85.09	0.183	83.41	0.046	92.86
	Mod.9		1586–1238	2	0.212	78.73	0.232	73.53	0.053	90.24
	Mod.10			3	0.163	87.55	0.170	85.65	0.059	87.92
	Mod.11		1586–550	2	0.173	85.73	0.191	82.05	0.064	85.78
	Mod.12	No treatments	1240–550	2	0.132	91.71	0.146	89.40	0.071	82.93
	Mod.13			3	0.087	96.43	0.091	95.89	0.105	61.85
	<b>Mod.14</b>		1586–550	3	0.126	92.53	0.131	91.56	0.071	82.79
Eugenol	Mod.15	First derivative	1804–1586 1240–550	5	0.168	98.54	0.197	97.75	0.282	93.78
	<b>Mod.16</b>		1240–893	4	0.164	98.57	0.185	98.01	0.167	97.81
	Mod.17			5	0.139	99.01	0.169	98.34	0.202	96.81
	Mod.18			6	0.133	99.10	0.158	98.56	0.214	96.41
	Mod.19		1804–550	5	0.159	98.69	0.195	97.79	0.271	94.23
	Mod.20		1804–1586 1240–893	5	0.170	98.51	0.196	97.78	0.277	93.98
	Mod.21	First derivative	1804–1238	5	0.186	98.36	0.208	97.47	0.145	80.61
<b>Mod.22</b>	Second derivative	1804–1238 895–550	5	0.166	98.69	0.196	97.75	0.129	84.56	
Mod.23		1804–550	4	0.181	98.39	0.212	97.36	0.144	80.89	
Mod.24		1804–893	4	0.181	98.38	0.212	97.36	0.146	80.38	
Mod.25		1804–1586 1240–550	4	0.222	97.56	0.246	96.45	0.152	78.58	
Mod.26	First derivative + subtraction of line	1804–1238 895–550	5	0.185	98.38	0.208	97.47	0.142	81.30	
Mod.27		1804–1238	5	0.185	98.37	0.208	97.47	0.145	80.67	

Note: Root means square error of calibration (RMSEC), cross-validation (RMSECV) and prediction (RMSEP), LV (latent variable). The selected models in bold are the best models that were used for external quantification of plant extracts in Table 10.

**TABLE 8** Comparison between real concentrations of the first series of synthetic samples and theoretical predicted by transmission and ATR-FTIR by applying mod.1, mod.3, mod.5 and mod.7 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol, respectively, shown in Table 4, and mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol, respectively, shown in Table 7

Sample	Salicylic acid (mg/mL)			<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid (mg/mL)			Eugenol (mg/mL)		
	Found			Found			Theoretic		
	Theoretic	Transmission	ATR	Theoretic	Transmission	ATR	Theoretic	Transmission	ATR
1	0.42	0.50 ± 0.04 (19.1%)	0.41 ± 0.11 (-2.4%)	0.31	0.33 ± 0.02 (6.5%)	0.35 ± 0.12 (12.9%)	0.73	0.44 ± 0.06 (2.3%)	0.53 ± 0.08 (10.4%)
2	0.63	0.61 ± 0.02 (-3.2%)	0.59 ± 0.02 (-6.4%)	0.43	0.35 ± 0.04 (-18.6%)	0.48 ± 0.02 (-5.9%)	1.21	0.64 ± 0.05 (3.2%)	0.70 ± 0.11 (-4.1%)
3	0.81	0.79 ± 0.04 (-2.5%)	0.80 ± 0.12 (1.3%)	0.51	0.59 ± 0.05 (-4.8%)	0.71 ± 0.03 (-2.7%)	1.51		
4	1.03	1.07 ± 0.03 (3.9%)	1.10 ± 0.08 (6.8%)	0.62			1.82		
5	1.22	1.19 ± 0.03 (-2.5%)	1.24 ± 0.16 (1.6%)	0.73			2.03		

Note: mean values ± standard deviation. Values between parentheses correspond to relative error.

**TABLE 8** Continued

Sample	Eugenol (mg/mL)			Thymol (mg/mL)		
	Found			Found		
	Theoretic	Transmission	ATR	Theoretic	Transmission	ATR
1	0.73	0.71 ± 0.03 (-2.7%)	0.65 ± 0.12 (-11.0%)	0.61	0.68 ± 0.07 (11.5%)	0.62 ± 0.13 (1.6%)
2	1.21	1.17 ± 0.03 (-3.3%)	1.22 ± 0.16 (0.8%)	1.02	0.98 ± 0.09 (-3.9%)	1.07 ± 0.21 (4.9%)
3	1.51	1.46 ± 0.03 (-3.3%)	1.55 ± 0.11 (7.8%)	1.41	1.36 ± 0.04 (-3.6%)	1.44 ± 0.18 (2.1%)
4	1.82	1.88 ± 0.05 (3.3%)	1.78 ± 0.02 (-2.2%)	2.03	2.01 ± 0.04 (-1.0%)	2.08 ± 0.24 (2.5%)
5	2.03	2.06 ± 0.02 (1.5%)	2.10 ± 0.12 (3.5%)	2.42	2.47 ± 0.03 (2.1%)	2.37 ± 0.18 (-2.1%)

Note: mean values ± standard deviation. Values between parentheses correspond to relative error.

of the three considered compounds increase simultaneously and that could be exceptional on the case of unknown samples. So, a new series of five samples with concentrations of salicylic acid from 0.61 to 3.02, from 1.11 to 2.21 for *p*-hydroxybenzoic acid and from 0.4 to 1.43 for vanillic acid being variable the relationship between all compounds considered. For this series of samples represented by Mod.4, Mod.5 and Mod.6, the RMSEP of selected models were lower than those obtained by transmission measurements, thus indicating once again the advantage of using the dry spot ATR strategy.

Table 6 summarises the data found for the five samples using the PLS approaches FTIR and it was obtained by the regression line  $A = f(C)$  between predicted PLS data and real values of salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid and vanillic acid for transmission and dry spot ATR data confirming that ATR measurement provided the most accurate results. In the case of ATR-FTIR data, an additional five samples were employed to evaluate the accuracy of the prediction models and, as can be seen in the Supporting Information Table S1 and from the equation  $y = 0.8163C_{\text{theor}} + 1.5$  with  $R^2 = 0.9998$  obtained for the total number of samples assays, the method provided accurate results.

### 3.6 | PLS calibration of mixtures of phenolic acids of different classes by ATR measurements

Spectral ranges between 1804–1586  $\text{cm}^{-1}$ , 1804–1238  $\text{cm}^{-1}$ , 1586–1238  $\text{cm}^{-1}$ , 1240–893  $\text{cm}^{-1}$  and 895–550  $\text{cm}^{-1}$  were assayed for ATR-FTIR (see Table 7). The best models were chosen to take into consideration the predictive capability for a set of mixtures of the four compounds considered.

In general, it can be concluded that ATR measurements provided lower RMSEP than transmission spectra with the additional advantage of the possibility offered to directly analyse ethanolic extracts obtained from plants without the need to charge the solvent to obtain an extended wavenumber slot without solvent interactions. Tables 8 and S2 correspond to the comparison between the theoretical and found concentration values between transmission and ATR-FTIR measurements by applying mod.1, mod.3, mod.5 and mod.7 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol, respectively, shown in Table 4, and mod.1, mod.14, mod.16, mod.22 for salicylic acid, *p*-hydroxybenzoic acid, eugenol, and thymol, respectively, shown in Table 7. However, both strategies provided accurate results for the prediction of the test set and the concentration in synthetic samples as can be confirmed from data reported in Table 8. The regression between results predicted ( $y$ ) and theoretical concentration of samples provided equation  $y = 0.8625C - 0.154$  with  $R^2 = 0.9980$  for transmission measurements and  $y = 1.0375C + 0.098$  with  $R^2 = 0.9990$  for ATR spectra. However, the incorporation of five additional samples for the prediction of their concentrations by ATR-FTIR measurements on dry ethanolic film (see Table S2) included once again the accuracy of this methodology providing a good regression equation of

**TABLE 9** Comparison of the relative error rate of salicylic acid and *p*-hydroxybenzoic acid between the mixture of phenolic acids and the mixture of phenolic acids and monoterpenic phenols by transmission-FTIR measurement and ATR-FTIR measurement

PLS calibration mixtures	Salicylic acid (mg/mL)		<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid (mg/mL)	
	Transmission	ATR	Transmission	ATR
PLS calibration of mixtures of standards of the same class (phenolic acids)	Error rate (%)	–5.14 to 22	Error rate (%)	–3.0 to 14
			Error rate (%)	–2.8 to 7.6
PLS calibration of mixtures of standards of different classes (phenolic acids and monoterpenes)	Error rate (%)	–2.5 to 19.1	Error rate (%)	–18.6 to 6.5
			Error rate (%)	–4.1 to 12.9

**TABLE 10** Quantification of phenolic compounds contained in plant extracts by external prediction

Solvent extraction	Plant extracts: ➤ phenolic composition <sup>a</sup>	Selected models	Concentration of phenolic acid by external prediction	Concentration of total phenolic compound mg/1 g of the extract by Folin-Ciocalteu method
Water/methanol (MIR-transmission)	<u>Oregano:</u>			
	➤ <i>p</i> -Coumaric acid	Mod.5 (Table 4)	0.448 ± 0.059 mg/mL	46.52
	➤ Caffeic acid		35.84 mg/1 g	
	➤ Rosmarinic acid			
	➤ eugenol			
	<u>Cinnamon:</u>			
	➤ <i>trans</i> -Cinnamic acid	Mod.1 (Table 3)	0300 ± 0.043 mg/mL	35.85
	➤ Salicylic acid	Mod.5 (Table 4)	12 mg/1 g	
	➤ Eugenol			
	<u>Clove:</u>			
	➤ Eugenol	Mod.5 (Table 4)	0.651 ± 0.018 mg/mL	119.4
	➤ Gallic acid	Mod.4 (Table 3)	17.92 mg/1 g	
	➤ Vanillic acid			
	<u>Thyme:</u>			
	➤ Thymol	Mod.7 (Table 4)	2.008 ± 0.074 mg/mL	53.9
	➤ Gallic acid		80.32 mg/1 g	
	➤ <i>p</i> -Coumaric acid	Mod.3 (Table 3)	0.541 ± 0.061 mg/mL	
	➤ <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid		21.60 mg/1 g	
	<u>Rosemary:</u>			
➤ <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Mod.3 (Table 3)	1.645 ± 0.071 mg/mL	70.2	
➤ Vanillic acid	Mod.4 (Table 3)	65.8 mg/1 g		
➤ Rosmarinic acid		0.423 ± 0.054 mg/mL		
		16.80 mg/1 g		
		0.737 ± 0.028 mg/mL		
		29.48 mg/1 g		
		0.351 ± 0.053 mg/mL		
		14.04 mg/1 g		
EtOH extraction (MIR-ATR)	<u>Thyme:</u>			
	➤ Thymol	Mod.22 (Table 7)	2.734 ± 0.032 mg/mL	106.5
	➤ Gallic acid	Mod.14 (Table 7)	47.96 mg/1 g	
	➤ <i>p</i> -Coumaric acid		1.054 ± 0.044 mg/mL	
	➤ <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid			
	➤ Caffeic acid			
	<u>Rosemary:</u>			
	➤ <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	Mod.14 (Table 7)	15.61 mg/1 g	121.5
	➤ Vanillic acid	Mod.6 (Table 5)	1.345 ± 0.051 mg/mL	
	➤ Rosmarinic acid		23.60 mg/1 g	
	➤ Caffeic acid		0.59 ± 0.063 mg/mL	
	<u>Oregano:</u>			
	➤ <i>p</i> -Coumaric acid	Mod.16 (Table 7)	1.568 ± 0.012 mg/mL	93.5
➤ Caffeic acid		27.51 mg/1 g		
➤ Rosmarinic acid				
➤ Eugenol				

<sup>a</sup>Major phenol compounds are shown in bold typeface.

$y = 1.1052C + 0.084$  with  $R^2 = 0.9995$  for the 10 samples analysed through this way.

The high linear regression coefficients associated with low RMSEP and low RMSECV testify to the robustness of the constructed models.

### 3.7 | Comparison of the relative error rate of salicylic acid and *p*-hydroxybenzoic acid between the mixture of phenolic acids and the mixture of phenolic and monoterpenic phenols

From the results shown in Table 9, it can be concluded that the order of magnitude of the relative error of each standard is almost the same by considering the calibration matrix of standards of the same class (phenolic acids) or standards of different classes (phenolic acids and monoterpenic phenols).

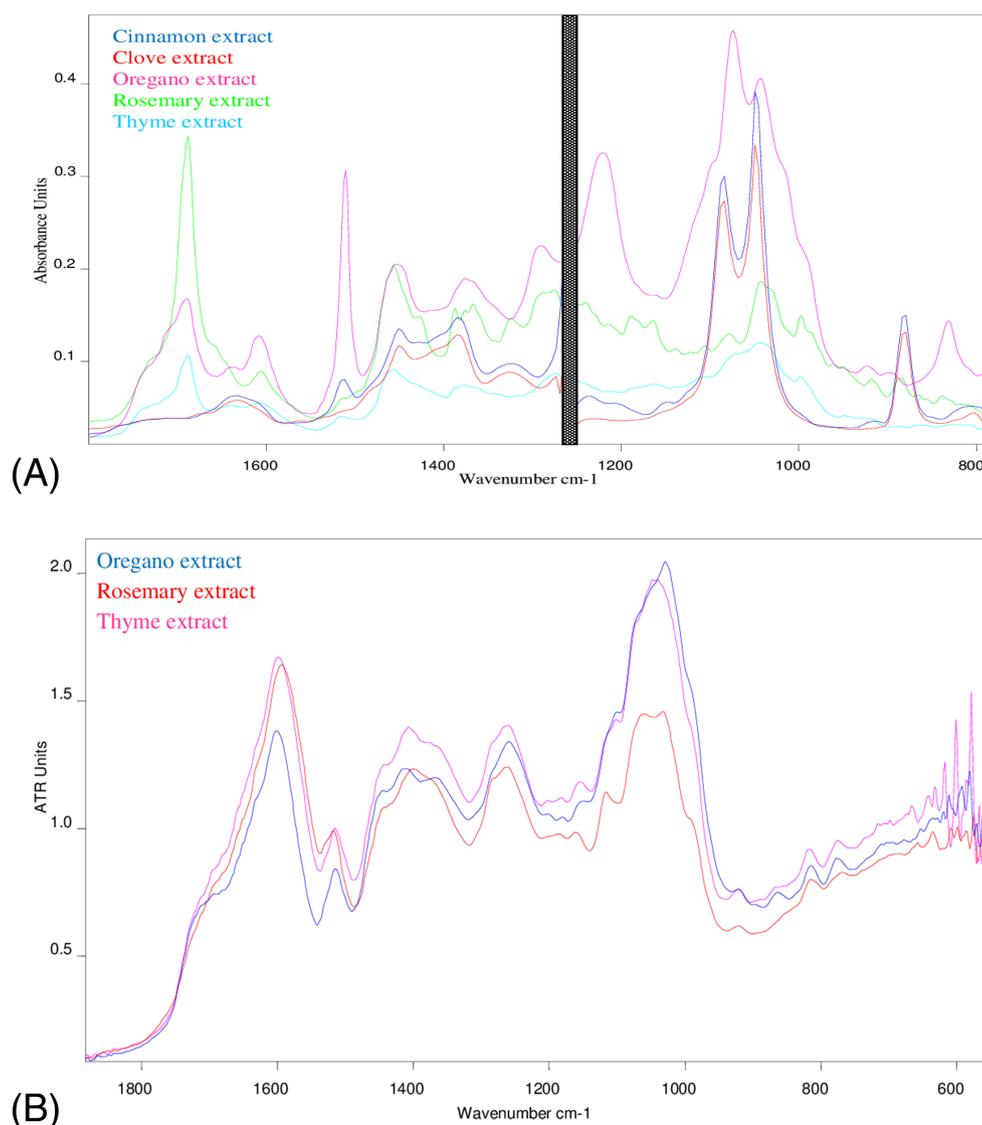
These results confirm that the prediction of the content of a phenolic acid can be obtained with accuracy by exploiting both in the

calibration matrix constructed from phenols of the same classes, as the phenolic acid to be analysed, as in the matrix of calibration constructed from phenols of different classes.

### 3.8 | PLS-FTIR analysis of plant extracts

Figure 4 illustrates the FTIR spectra of phenolic compounds extracted from medicinal plants both in transmission mode in the spectral zones between 1687 and 845  $\text{cm}^{-1}$  (Figure 4A) and in ATR mode in the spectral zones between 1852 and 550  $\text{cm}^{-1}$  (Figure 4B).

Table 10 resumes the analysis of plant extracts, whether for the water/methanol extracts and the ethanolic extracts by using transmission and ATR measurements. The results have been shown that during the quantification with external prediction, the rate of phenolic acids and monoterpenic phenols is lower than with the Folin-Ciocalteu method, which quantifies the level of total phenolic compounds which are interfered with other compounds, and therefore the assay with a PLS calibration is more specific and selective.



**FIGURE 5** Green evaluation of transmission-FTIR and ATR-FTIR-MIR methodologies [Colour figure can be viewed at [wileyonlinelibrary.com](http://wileyonlinelibrary.com)]

Regarding the analysis method, the extracts analysed by MIR-ATR measurement show higher compound rates compared to the extracts analysed by transmission-FTIR measurement, which reveals that the analysis by ATR-FTIR is more sensitive. It should be noted that for external prediction, when a standard is in an extract in low concentration (outside the calibration range), we have been unable to quantify the compound in question.

### 3.9 | Green evaluation of ATR-FTIR-MIR and transmission-FTIR developed methodology

To classify the analytical methods in the so-called Green Certificate scale, the penalty points, associated with the amount of reagent, waste volume, and the amounts of energy consumed, is calculated according to criteria established in the literature<sup>72</sup> (shown in Figure 5). The results in Tables S3 and S4 correspond to the method of analysis belonging to phenolic acids of the same class. Although the calculated penalty points are similar according to the green certificate, the analysis by ATR which is easier and faster is recommended.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the financial support of the National Research Foundation (DGRSDT) and PRFU. N°: B00LO1UN090120180001-Algeria.

#### CONFLICT OF INTEREST

There are no conflicts of interest to declare.

#### ORCID

Nachida Bensemmane  <https://orcid.org/0000-0003-2982-097X>

Naima Bouzidi  <https://orcid.org/0000-0002-6702-319X>

Yasmina Daghbouche  <https://orcid.org/0000-0002-8022-2329>

Salvador Garrigues  <https://orcid.org/0000-0002-5461-7589>

Miguel de la Guardia  <https://orcid.org/0000-0002-9982-1663>

Mohamed El Hattab  <https://orcid.org/0000-0003-0926-382X>

#### REFERENCES

- Dimitrios B. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends Food Sci Technol.* 2006;17(9):505-512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.004>
- Archivio MD, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanità.* 2007;43(4):348-361.
- Schieber A, Stintzing FC, Carle R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds – recent developments. *Trends Food Sci Technol.* 2001;12:401-413. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(02\)00012-2](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(02)00012-2)
- Moure A, Cruz JM, Franco D, et al. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem.* 2001;72:145-171. [https://doi.org/10.1016/s0308-8146\(00\)00223-5](https://doi.org/10.1016/s0308-8146(00)00223-5)
- Oliveira LDLD, Carvalho MVD, Melo L. Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres J Food Sci Technol.* 2014;61:764-779. <https://doi.org/10.1590/0034-737x201461000002>
- Ahmed IA, Mikail MA, Bin Ibrahim M, et al. Antioxidant activity and phenolic profile of various morphological parts of underutilised *Baccaurea angulata* fruit. *Food Chem.* 2015;172:778-787. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.122>
- Velderrain-Rodríguez GR, Palafox-Carlos H, Wall-Medrano A, et al. Phenolic compounds: Their journey after intake. *Food Funct.* 2014;5(2):189-197. <https://doi.org/10.1039/C3FO60361J>
- Zhang B, Deng Z, Ramdath DD, et al. Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on  $\alpha$ -glucosidase and pancreatic lipase. *Food Chem.* 2015a;172:862-872. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.144>
- Pradeep PM, Sreerama YN. Impact of processing on the phenolic profiles of small millets: Evaluation of their antioxidant and enzyme inhibitory properties associated with hyperglycemia. *Food Chem.* 2015; 169:455-463. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.010>
- Oroian M, Escriche I. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res Int.* 2015;74:10-36. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- Anaëlle T, Serrano Leon E, Laurent V, et al. Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model. *Talanta.* 2013;104:44-52.
- Tomsone L, Kruma Z, Galburda R. Comparison of different solvents and extraction methods for isolation of phenolic compounds from horseradish roots (*Armoracia rusticana*). *International Scholarly and Scientific Research & Innovation.* 2012;6(4):236-241.
- Quideau S, Deffieux D, Douat-Casassus C, Pouységu L. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angew Chem.* 2011;50(3):586-621. <https://doi.org/10.1002/anie.201000044>
- Dias MI, Sousa MJ, Alves RC, Ferreira ICFR. Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Ind Crops Prod.* 2016;82:9-22. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.016>
- Ho CT. Phenolic compounds in food: an overview. In: Ho CT, Lee CY, Huang MT, eds. *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health I: Analysis, Occurrence, and Chemistry.* Vol.506 Washington, DC: American Chemical Society; 1992:2-7.
- Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* 1997;2:152-159. [https://doi.org/10.1016/s1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)01018-2)
- Wojdylo A OJ, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 2007;105:940-949. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.038>
- Cartea ME, Francisco M, Soengas P, Velasco P. Phenolic compounds in brassica vegetables. *Molecules.* 2011;16(1):251-280. <https://doi.org/10.3390/molecules16010251>
- Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/-MSn. *Food Chem.* 2011;127:807-821. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.156>
- Pirisi FM, Cabras P, Cao CF, Migliorini M, Muggelli M. Phenolic compounds in virgin olive oil. 2. Reappraisal of the extraction, HPLC separation, and quantification procedures. *J Agric Food Chem.* 2000;48(4): 1191-1196. <https://doi.org/10.1021/jf991137f>
- De la Torre-Carbot K, Jauregui O, Gimeno E, Castellote AI, Lamuela-Raventós RM, López-Sabater MC. Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by solid-phase extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS. *J Agric Food Chem.* 2005;53:4331-4340. <https://doi.org/10.1021/jf0501948>
- Weisz GM, Kammerer DR, Carle R. Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn. *Food Chem.* 2009;115:758-765. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.074>

23. GavriloVA V, Kajdzanoska M, Gjamovski V, Stefova M. Separation, characterization and quantification of phenolic compounds in blueberries and red and black currants by HPLC–DAD–ESI–MSn. *J Agric Food Chem.* 2011;59(8):4009–4018. <https://doi.org/10.1021/jf104565y>
24. Tomás-Barberán FA, Gil MI, Cremin P, Waterhouse AL, Hess-Pierce B, Kader AA. HPLC–DAD–ESIMS analysis of phenolic compounds in nectarines, peaches, and plums. *J Agric Food Chem.* 2001;49:4748–4760. <https://doi.org/10.1021/jf0104681>
25. Guyot S, Marnet N, Laraba D, Sanoner P, Drilleau JF. Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *J Agric Food Chem.* 1998;46:1698–1705. <https://doi.org/10.1021/jf970832p>
26. Adamson GE, Lazarus SA, Mitchell AE, et al. HPLC method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J Agric Food Chem.* 1999;47:4184–4188. <https://doi.org/10.1021/jf990317m>
27. Proestos C, Chorianopoulos N, Nychas G-JE, Komaitis M. RP-HPLC analysis of the phenolic compounds of plant extracts. Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *J Agric Food Chem.* 2005;53(4):1190–1195. <https://doi.org/10.1021/jf040083t>
28. Palafox-Carlos H, Yahia EM, González-Aguilar GA. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS–ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chem.* 2012;135:105–111. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.103>
29. Al-Turki AI, El-Ziney MG, Abdel-Salam AM. Chemical and antibacterial characterization of aqueous extracts of oregano, marjoram, sage and licorice and their application in milk and labneh. *J Food, Agric Environ.* 2008;6:39–44. ISSN: 1459-0255
30. Ross KA, Beta T, Arntfield SD. A comparative study on the phenolic acids identified and quantified in dry beans using HPLC as affected by different extraction and hydrolysis methods. *Food Chem.* 2009;113:336–344. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.064>
31. Proestos C, Sereli D, Komaitis M. Determination of phenolic compounds in aromatic plants by RP-HPLC and GC-MS. *Food Chem.* 2006;95:44–52. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.016>
32. Ibern-Gómez M, Andrés-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, Waterhouse AL. Rapid HPLC analysis of phenolic compounds in red wines. *Am J Enology Vitic.* 2002;53:218–221.
33. Chisté RC, Mercadante AZ. Identification and quantification, by HPLC–DAD–MS/MS, of carotenoids and phenolic compounds from the Amazonian fruit *Caryocar villosum*. *J Agric Food Chem.* 2012;60(23):5884–5892. <https://doi.org/10.1021/jf301904f>
34. Lou SN, Ho C-T. Phenolic compounds and biological activities of small-size citrus: Kumquat and calamondin. *J Food Drug Anal.* 2017;25(1):162–175. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.024>
35. Stratil P, Klejdus B, Kuban V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta.* 2007;71:1741–1751. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.08.012>
36. Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.* 2001;49:5165–5170. <https://doi.org/10.1021/jf010697n>
37. Kuwatsuka S, Shindo H. Behavior of phenolic substances in the decaying process of plants: I. Identification and quantitative determination of phenolic acids in Rice straw and its decayed product by gas chromatography. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 1973;19:219–227. <https://doi.org/10.1080/00380768.1973.10432591>
38. Kelebek H, Selli S. Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dortyol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice. *J Sci Food Agric.* 2011;91:1855–1862. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4396>
39. Razboršek MI, Vončina DB, Doleček V, Vincina E. Determination of major phenolic acids, phenolic Diterpenes and triterpenes in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) by gas chromatography and mass spectrometry. *Acta Chim. Slov.* 2007;54:60–67. ISSN: 1318-0207
40. Thorsen MA, Brandt KS. Quantitative determination of phenolic diterpenes in rosemary extracts: Aspects of accurate quantification. *J Chromatogr A.* 2003;995(1-2):119–125. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(03\)00487-4](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(03)00487-4)
41. Cuevas-Glony LF, Pino JA, Santiago LS, Sauri-Duch LF. A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chem.* 2007;103:1032–1043. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.068>
42. Manyi-Loh CE, Ndip RN, Clarke AM. Volatile compounds in honey: A review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *Int J Mol Sci.* 2011;12(12):9514–9532. <https://doi.org/10.3390/ijms12129514>
43. Karagiannis S, Economou A, Lanaridis P. Phenolic and volatile composition of wines made from *Vitis vinifera* cv. Muscat Lefko grapes from the island of Samos. *J Agric Food Chem.* 2000;48(11):5369–5375. <https://doi.org/10.1021/jf000459c>
44. Grevsen K, Frette XC, Christensen LP. Content and composition of volatile terpenes, flavonoids and phenolic acids in Greek oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *Hirtum*) at different development stages during cultivation in cool temperate climate. *Eur J Horticult Sci.* 2009;74:193–203.
45. Leyva-Lopez N, Nair V, Bang WY, Cisneros-Zevallos L, BasilioIteredia J. Protective role of terpenes and polyphenols from three species of oregano (*Lippia graveolens*, *Lippia palmeri* and *Hedeoma patens*) on the suppression of lipopolysaccharide-induced inflammation in RAW 264.7 macrophage cells. *J Ethnopharmacol.* 2016;187:302–312. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.051>
46. Wen D, Li C, Di H, Liao Y, Liu H. A universal HPLC method for the determination of phenolic acids in compound herbal medicines. *J Agric Food Chem.* 2005;53:6624–6629. <https://doi.org/10.1021/jf0511291>
47. Kesen S, Kelebek H, Selli S. Characterization of the volatile, phenolic and antioxidant properties of monovarietal olive oil obtained from cv. Halhali. *J Am Oil Chem Soc.* 2013;90:1685–1696. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2327-8>
48. Nakatani N, Kayano S, Kikuzaki H, Sumino K, Katagiri K, Mitani T. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.). *J Agric Food Chem.* 2000;48(11):5512–5516. <https://doi.org/10.1021/jf000422s>
49. Stehfest K, Boese M, Kerns G, Piry A, Wilhelm C. Fourier transform infrared spectroscopy as a new tool to determine rosmarinic acid in situ. *J Plant Physiol.* 2004;161(2):151–156. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01099>
50. Pei L-K, Sun S-Q, Guo B-L, Huang W-H, Xiao P-G. Fast quality control of Herba Epimedii by using Fourier transform infrared spectroscopy. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.* 2008;70(2):258–264. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2007.07.053>
51. Oliveira RN, Mancini MC, de Oliveira FCS, et al. FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing. *Matéria (Rio J).* 2016;21(3):767–779. <https://doi.org/10.1590/s1517-707620160003.0072>
52. Barraza-Garza G, Castillo-Michel H, de la Rosa LA, et al. Infrared spectroscopy as a tool to study the antioxidant activity of polyphenolic compounds in isolated rat enterocytes. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1–10. <https://doi.org/10.1155/2016/9245150>
53. Pappas CS, Takidelli C, Tsantili E, Tarantilis PA, Polissiou MG. Quantitative determination of anthocyanins in three sweet cherry varieties using diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy. *J Food Compos Anal.* 2011;24(1):17–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.07.001>

54. Cozzolina D. The role of visible and infrared spectroscopy combined with chemometrics to measure phenolic compounds in grape and wine samples. *Molecules*. 2015;20(1):726-737. <https://doi.org/10.3390/molecules20010726>
55. Tahir HE, Xiaobo Z, Zhihua L, et al. Rapid prediction of phenolic compounds and antioxidant activity of Sudanese honey using Raman and Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. *Food Chem*. 2017; 226:202-211. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.024>
56. Do QD, Angkawijaya AE, Tran-Nguyen PL, et al. Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoids content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *J Food Drug Anal*. 2014;22(3): 296-302. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001>
57. Alu'datt MH, Rababah T, Alhamad MN, et al. A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds. *Food Chem*. 2017;218:99-106. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.057>
58. Angerosa F, d'Alessandro N, Konstantinou P, Di Giacinto L. GC-MS evaluation of phenolic compounds in virgin olive oil. *J Agric Food Chem*. 1995;43(7):1802-1807. <https://doi.org/10.1021/jf00055a010>
59. Liggins J, Bluck LJC, Runswick S, Atkinson C, Coward WA, Bingham SA. Daidzein and genistein content of fruits and nuts. *J Nutr Biochem*. 2000;11(6):326-331. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(00\)00085-1](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(00)00085-1)
60. Nuchuchua O, Saesoo S, Sramala I, Puttipatkhachorn S, Soottitantawat A, Ruktanonchai U. Physicochemical investigation and molecular modeling of cyclodextrin complexation mechanism with eugenol. *Food Res Int*. 2009;42(8):1178-1185. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.06.006>
61. Höskuldsson A, Esbensen KH. Multivariate data analysis: quo vadis? *J Chemometr*. 2003;17(1):45-52. <https://doi.org/10.1002/cem.788>
62. Kirwan GM, Johansson E, Kleemann R, et al. Building multivariate systems biology models. *Anal Chem*. 2012;84(16):7064-7071. <https://doi.org/10.1021/ac301269r>
63. Chang W-Q, Zhou J-L, Li Y, et al. An in vitro approach for lipolysis measurement using high-resolution mass spectrometry and partial least squares based analysis. *Anal Chim Acta*. 2017;950:138-146. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.10.043>
64. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965;16:144-158.
65. Yang Y, Song LX. Study on the inclusion compounds of eugenol with  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and heptakis(2,6-di-O-methyl)- $\beta$ -cyclodextrins. *J Incl Phenom Macrocycl Chem*. 2005;53(1-2):27-33. <https://doi.org/10.1007/s10847-005-0247-4>
66. Valderrama ACS, De GCR. Traceability of active compounds of essential oils in antimicrobial food packaging using a chemometric method by ATR-FTIR. *Am J Analyt Chem*. 2017;8:726-741. <https://doi.org/10.4236/ajac.2017.811053>
67. Feigl F, Anger V. *Spot tests in organic analysis*. 7th ed. Amsterdam: Elsevier Science; 1983. <https://www.elsevier.com/books/spot-tests-in-organic-analysis/feigl/978-0-444-40209-7>
68. Ariga GG, Nandibewoor ST, Chimatadar SA. Oxidative degradation of antibacterial drug, methylparaben, by MnVII in perchloric acid medium: a kinetic and mechanistic approach. *J Indian Chem Soc*. 2015; 92:1705-1714.
69. Guan XH, Chen GH, Shang C. ATR-FTIR and XPS study on the structure of complexes formed upon the adsorption of simple organic acids on aluminum hydroxide. *J Environ Sci*. 2007;19:438-443. [https://doi.org/10.1016/s1001-0742\(07\)60073-4](https://doi.org/10.1016/s1001-0742(07)60073-4)
70. Trivedi M, Branton A, Trivedi D, Shettigar H, Bairwa K, Jana S. Fourier transform infrared and ultraviolet-visible spectroscopic characterization of biofield treated salicylic acid and sparfloxacin. *Nat Prod Chem Res*. 2015;3(5):1-6. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000186>
71. Clavijo E, Menéndez JR, Aroca R. Vibrational and surface-enhanced Raman spectra of vanillic acid. *J Raman Spectrosc*. 2008;39(9):1178-1182. <https://doi.org/10.1002/jrs.1959>
72. Armenta S, de la Guardia M, Namiesnik J, Valcarcel M (Eds). *Green microextraction in analytical microextraction techniques*. Saif, Sharjah, United Arab Emirates: Bentham Science; 2015.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

**How to cite this article:** Bensemmane N, Bouzidi N, Daghbouche Y, Garrigues S, M de la Guardia, El Hattab M. Quantification of phenolic acids by partial least squares Fourier-transform infrared (PLS-FTIR) in extracts of medicinal plants. *Phytochemical Analysis*. 2021;32:206-221. <https://doi.org/10.1002/pca.2974>