

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET

DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université Saad Dahleb, Blida1

Faculté des sciences

Département de Chimie

Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules

(LCSN-BioM)

Mémoire de master en chimie

Spécialité : chimie analytique

Présenté par

DAOUDI Ikram

LAHRIR Yousra

CHERRAR Nawel

Mémoire de fin d'étude de MASTER-LMD

**Analyse de formulations commerciales utilisées pour le
traitement anti-inflammatoire par spectroscopie infrarouge
à transformée de Fourier**

Soutenu publiquement le 29 juin 2025 devant le jury composé de :

Mme A.Nasri

M.C.B

Présidente

Université Blida 1

Mme R.ZIANE

M.A.A

Examinatrice

Université Blida 1

Mme N.BOUZIDI

Pr

Promotrice

Université Blida 1

Promotion 2024-2025



وَكَانَ فَضْلُ اللَّهِ عَلَيْكَ عَظِيمًا

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination.

Les cinq années d'étude nous ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase tout simple.

Avant tout, nous remercions Dieu, Le Tout-Puissant, de nous avoir accordé la santé, la patience et la force nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à Madame Bouzidi, notre promotrice, pour son encadrement, ses conseils précieux, sa disponibilité et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous tenons également à rendre hommage à feu Madame Bounaas Karima, qu'Allah ait son âme, pour tout ce qu'elle a apporté au parcours des étudiants. Que Dieu lui accorde Sa miséricorde et l'accueille en Son vaste paradis.

Nos remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire de chimie des produits naturels et des biomolécules pour l'accueil, l'assistance et les équipements mis à notre disposition.

Membres de jury, on vous remercie pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de siéger dans ce jury malgré vos multiples occupations.

Dédicace

À Allah,

Le Créateur, Le Soutien, Le Tout-Miséricordieux.

C'est à Toi que revient toute louange.

*Tu m'as donné la force quand j'étais épuisée, la patience quand j'étais à bout,
et la lumière quand le chemin était sombre.*

Tu es la source de chaque réussite. Alhamdoulillah, pour tout.

À ma chère mère,

celle qui m'a portée deux fois : dans son ventre, puis dans la vie.

Ta tendresse, tes prières, ton amour pur ont été mon refuge.

Aucune parole ne saurait rendre justice à tout ce que tu es pour moi.

Que Dieu te protège et t'élève toujours.

À mon père,

mon exemple de sagesse, de dignité et de force tranquille.

*Merci pour tes encouragements, ta foi en moi, et ton soutien
inestimable.*

*Tu es une source de stabilité et de fierté. Qu'Allah te récompense
grandement.*

À moi-même,

pour avoir traversé les doutes, les échecs et les nuits sans sommeil.

*Pour avoir continué malgré la fatigue, et pour ne jamais avoir cessé
de croire en mes capacités.*

Je me rends hommage pour ce courage silencieux.

À Yousra et Nawal,

plus que des camarades, de vraies sœurs de route.

*Merci pour ces moments de travail intense, mais aussi pour les rires,
les partages, les complicités.*

*Notre trinôme a été une force. Ce mémoire est aussi le fruit de notre
belle collaboration.*

Je suis fière d'avoir marché à vos côtés.

À tous ceux qui ont cru en moi,

famille, amis, enseignants, encadrants...

*Chaque mot d'encouragement, chaque regard bienveillant a été une
lumière sur mon chemin.*

Merci du fond du cœur.

IKRAM

Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui me permet d'arriver à ce but.

Je dédie ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur :

À mes très chers parents « Nasser et Zakia » qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne qui par leur précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix de la réussite.

À mes très chères sœurs, Kaouther, Wissam et son mari Azdine, une dédicace toute particulière à Oussaid, le fils de ma sœur,

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

À toute la famille paternelle et maternelle

À mon trînomme, Nawel et Ikram, qui ont partagé avec moi les moments difficiles de ce travail, au nom de l'amitié qui nous unit et de nos souvenirs inoubliables.

Enfin, a tous mes ami(e)s de la promotion

2024-2025

YOUSRA

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mes parents, ma très chère maman et mon père : vos sacrifices et votre amour m'ont aidé à rester dans la bonne voie. Merci pour les durs sacrifices que vous avez acceptés durant mes longues années d'études. Vos conseils et vos aides resteront toujours un trésor inestimable. Recevez l'assurance de mon total dévouement et de tout mon amour.

Mes binômes IKRAM, YOUSRA qui m'ont accompagnées tout au long de ce travail.

A mes amis et ma famille.

A toutes les personnes à qui je réserve une place dans mon cœur et qui ont su être patients.

NAWEL

Résumé

L'objectif assigné à ce travail est le développement d'une nouvelle méthode analytique simple, rapide et respectueuse de l'environnement pour l'analyse des formulations à base d'huiles essentielles utilisées pour le traitement anti-inflammatoire.

D'abord, une analyse qualitative a été réalisée afin de vérifier la pureté des huiles considérées et attribuer les bandes caractéristiques aux groupements fonctionnels appropriés.

A cause de l'absence des teneurs des ingrédients sur l'étiquetage des formulations à base d'HE, nous avons opté pour une quantification de ces derniers. La formulation F.3 a été choisie pour effectuer l'analyse prédictive à cause de la disponibilité sur le marché local des huiles essentielles qu'elle contient à savoir l'HE L.g, T.h et A.m.

Du moment que le modèle monovarié n'a pas pu donner la composition exacte à cause du chevauchement de certaines bandes caractéristiques des HE considérées, nous avons été amenées à développer une méthode multi-variée PLS-FTIR afin de déterminer simultanément les trois constituants. Différents paramètres d'optimisation ont été étudiés lors de la modélisation (les gammes d'optimisation, l'option de prétraitement spectral, les régions spectrales et leurs rangs).

Les résultats de la prédiction ont révélé que le modèle PLS II était adéquat pour la détermination simultanée de trois huiles essentielles en fournissant des erreurs analytiques RMSEP les plus faibles de 0.187, 0.216 et 0.357 pour le clou de girofle, le thym et la camomille, respectivement. Des mélanges synthétiques ont été analysés en vue de valider la fiabilité du modèle, à travers l'évaluation des erreurs relatives. Par ailleurs, l'application de la méthode PLS-IRTF aux échantillons réels a permis d'obtenir des résultats globalement acceptables. Les valeurs d'exactitude, issues de la méthode des ajouts dosés, attestent de la bonne reproductibilité du modèle développé.

Mots clés : Huiles essentielles, formulations, FTIR, PLS, analyse prédictive

Abstract

The objective of this work is to develop a new analytical method that is simple, rapid, and environmentally friendly for analyzing essential oil-based formulations used for anti-inflammatory treatment.

First, a qualitative analysis was conducted to verify the purity of the selected essential oils and to assign the characteristic bands to the appropriate functional groups.

Due to the absence of ingredient concentrations on the labeling of essential oil-based formulations, we opted for the quantification of these components. Formulation F.3 was selected for predictive analysis because of the local market availability of its essential oil components, namely L.g, T.h, and A.m.

Since the univariate model was unable to provide accurate composition results due to the overlap of some characteristic bands of the considered essential oils, we were led to develop a multivariate PLS-FTIR method to simultaneously determine the three constituents. Various optimization parameters were investigated during the modeling process (optimization ranges, spectral pretreatment options, spectral regions, and their ranks).

Prediction results revealed that the PLS II model was suitable for the simultaneous determination of the three essential oils, providing the lowest analytical errors (RMSEP) of 0.187, 0.216, and 0.357 for clove, thyme, and chamomile, respectively. Synthetic mixtures were analyzed to validate the model's reliability by evaluating the relative errors. Moreover, applying the PLS-FTIR method to real samples yielded generally acceptable results. The accuracy values obtained through the standard addition method confirm the good reproducibility of the developed model.

Keywords: Essential oils, formulations, FTIR, PLS, predictive analysis.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير طريقة تحليلية جديدة بسيطة وسريعة وصديقة للبيئة لتحليل التركيبات القائمة على الزيوت الأساسية المستخدمة في العلاج المضاد للالتهابات.

في البداية، تم إجراء تحليل نوعي للتحقق من نقاء الزيوت الأساسية المختارة وتحديد نطاقات الامتصاص المميزة للمجموعات الوظيفية المناسبة.

ونظرًا لغياب تركيزات المكونات على ملصقات التركيبات المحتوية على الزيوت الأساسية، تم اختيار تحديد كمي لهذه المكونات.

تم اختيار التركيبة F.3 لإجراء التحليل التنبؤي نظرًا لتوفر الزيوت الأساسية التي تحتويها في السوق المحلي، وهي زيوت L.g و T.h و A.m.

وبما أن النموذج أحادي المتغير لم يتمكن من إعطاء التركيبة الدقيقة بسبب تداخل بعض نطاقات الامتصاص المميزة للزيوت الأساسية المدروسة، فقد لجأنا إلى تطوير طريقة متعددة المتغيرات باستخدام تقنية PLS-FTIR لتحديد المكونات الثلاثة في آنٍ واحد.

تمت دراسة العديد من معايير التحسين أثناء النمذجة (نطاقات التحسين، خيارات المعالجة المسبقة للطيف، المناطق الطيفية وترتيبها).

وقد كشفت نتائج التنبؤ أن نموذج PLS II كان مناسبًا لتحديد الزيوت الأساسية الثلاثة بشكل متزامن، حيث قدّم أدنى قيم للخطأ التحليلي (RMSEP) بلغت 0.187 و 0.216 و 0.357 للقرنفل والزعر والبابونج على التوالي.

تم تحليل خلطات تركيبية بهدف التحقق من موثوقية النموذج، من خلال تقييم الأخطاء النسبية.

كما أن تطبيق طريقة PLS-FTIR على العينات الحقيقية أدى إلى الحصول على نتائج مقبولة بوجه عام. وتؤكد قيم الدقة المحصلة بواسطة طريقة الإضافات القياسية على إعادة إنتاج جيدة للنموذج المطور.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية، التركيبات، FTIR، PLS، التحليل الكمي.

Table des matières

Résumés (français, anglais, arabe)

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des abréviations

Introduction générale

Capitre I : Revue bibliographique

Introduction sur les plantes médicinales et aromatiques	1
I.1. Présentation de quelques plantes médicinales et aromatiques	1
I.2. Huile essentielles	4
I.2.1. Généralité sur les huiles essentielles	4
I.2.2. Composition des huiles essentielles	5
I.2.3. Domaine d'application des huiles essentielles	5
I.2.4. Principales méthode d'extraction d'huile essentielle	6
I.2.5. Effets des huiles essentielles	8
I.2.6. Recommandations et les normes	11
I.3. Analyse par spectroscopie infrarouge	11
Introduction	11
I.3.1. Spectroscopie infrarouge	12
I.3.2. Principe de fonctionnement de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	13
I.3.3. Réflexion totale atténuée ATR (Attenuated Total Reflectance)	14
I.4. Analyse qualitative	15
I.5. Analyse quantitative	15
I.5.1. Loi de Beer-Lambert	15
I.5.2. Principe de la calibration monovariante	15
I.6. Méthodes de calibrage chimiométrique des spectrophotomètres	17
I.6.1. Principe de la calibration PLS multivariante (partial least squares)	17
I.6.2. Paramètres analytiques d'un modèle PLS	18
I.7. Lien entre la chimie verte et la chimie analytique verte	18
I.7.1. Principe de la chimie verte	18
I.7.2. Chimie analytique verte	18
I.8. Synthèse bibliographique sur les travaux antérieurs	21

Chapitre II : Partie expérimentale

Introduction	25
II.1. Echantillonnage	26
II.2. Préparation des huiles essentielles	27
II.3. Analyse par spectroscopie ATR-IRTF	30
II.4. Préparation des échantillons	32
II.4.1. Préparation de la matrice de calibration individuelle	32
II.4.2. Préparation des mélanges de calibration multivariée	32
II.4.3. Préparation des mélanges de validation	32
II.4.4. Préparation des mélanges synthétiques	33
II.5. Résultats et discussions	33
II.5.1. Rendement d'extraction	33
II.5.2. Comparaison entre les spectres des huiles essentielles	34
II.5.3. Etude des spectres des constituants de la formulation 1	37
II.5.4. Etude des spectres des constituants de la formulation 2	43
II.5.5. Etude des spectres des constituants de la formulation 3	48
II.5.6. Choix d'huile végétale (solvant de dilution)	52
II.5.7. Calibration individuelle	54
II.5.8. Calibration multivariable (PLS)	57
II.5.9. Méthode des ajouts dosés	65
II.5.10. Evaluation de la durabilité de la méthode	68
Conclusion générale	70
Références bibliographiques	72

Liste des figures

Chapitre I

	Page
Figure I.1 : Parties de la plante aromatique peuvent contenir de l'huile essentielle.	4
Figure I.2 : Structure chimique de quelques composés chimiques des huiles essentielles.	5
Figure I.3 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau.	7
Figure I.4 : Montage d'extraction par hydro distillation.	8
Figure I.5 : Répartition des rayonnements dans le spectre électromagnétique, avec mise en évidence des régions infrarouges (NIR, Mid IR, Far IR).	12
Figure I.6 : Schéma de principe de l'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge.	13
Figure I.7 : Schéma de principe de l'ATR.	14
Figure I.8 : Certificat vert « Green certificate » utilisé pour la classification des différentes méthodes analytiques.	19

Chapitre II

Figure II.1 : Extraction de l'huile essentielle de thym.	28
Figure II.2 : Organigramme du procédé d'extraction de l'huile essentielle	29
Figure II.3 : Caractéristiques principales du Spectromètre Nicolet iS10 (A) et Accessoire Smart Itr (B).	30
Figure II.4 : Organigramme résumant les étapes de la détermination par IRTF.	31
Figure II.5 : Spectres ATR-IRTf des huiles essentielles pures, (a) H.E de clou de girofle, (b) H.E de thym et (c) H.E de camomille obtenues par hydro distillation au laboratoire et par entraînement à la vapeur commerciale.	35
Figure II.6 : Spectres ATR-IRTf d'huile essentielle pures, (a) H.E de M.P com et M.P pure (b) H.E d'eucalyptus com et H.E d'eucalyptus pure.	36

Figure II.7 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de la menthe poivrée pure.	37
Figure II.8 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de la lavande pure.	38
Figure II.9 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E d'eucalyptus pure.	39
Figure II.10 :	Spectres ATR-IRTF de F.1 et trois huiles essentielles pures d'eucalyptus, lavande et de menthe poivrée.	40
Figure II.11 :	Spectres ATR-IRTF de F. 1 :(a) F.1, limonène et linalol (b) F.1 et citral.	42
Figure II.12 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de pin pure.	43
Figure II.13 :	Spectres ATR-IRTF de F.2 et les trois huiles essentielles pures de pin, menthe poivrée, d'eucalyptus, (a) F.1, H.E de menthe poivré et H.E d'eucalyptus, (b) F.1 et H.E de pin.	45
Figure II.14 :	Spectre ATR-IRTF de mélange F.2, camphre et menthol.	47
Figure II.15 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de clou de girofle pure.	48
Figure II.16 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de thym pure.	49
Figure II.17 :	Spectres ATR-IRTF d'H.E de Camomille pure.	50
Figure II.18 :	Spectres ATR-IRTF de F.3 et les trois HE pures de clou de girofle, thym et de camomille.	51
Figure II.19 :	Spectre ATR-IRTF de F.3 et d'huile végétale.	52
Figure II.20 :	Spectres ATR-IRTF des huiles végétales : huile de tournesol, huile d'olive, huile d'amande douce, huile de germe de blé et huile jojoba.	53
Figure II.21 :	Spectres ATR-IRTF de l'H de tournesol, H.E de clou de girofle, thym et camomille.	54
Figure II.22 :	Quantification des huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille dans la formulation 3 à l'aide du modèle PLS II (logiciel TQ Analyst).	63
Figure II.23 :	Spectre ATR-IRTF de F.1 et huile essentielle de camomille pure.	65
Figure II.24 :	Certificat vert de la méthode développée pour la détermination des huiles essentielles dans formulation par PLS –IRTF.	69

Liste des tableaux

Chapitre I

	Page
Tableau I.1 : Présentation de quelques plantes médicinales et aromatiques.	2
Tableau I.2 : Présentation de quelques huiles essentielles.	9
Tableau I.3 : Taux de dilution recommandés des huiles essentielles selon le type d'usage.	11
Tableau I.4 : Les points de pénalité pour les risques de certains réactifs.	20
Tableau I.5 : Les points de pénalité pour l'énergie de certaines techniques d'analyse.	20
Tableau I.6 : Résumé de travaux antérieurs sur L'extraction des huiles essentielles.	22
Tableau I.7 : Résumé de travaux antérieurs sur l'analyse des huiles essentielles.	23

Chapitre II

Tableau II.1 : Composition de formulation 1.	26
Tableau II.2 : Composition de formulation 2.	26
Tableau II.3 : Composition de formulation 3.	27
Tableau II.4 : Matrice des mélanges de calibration multivariée.	32
Tableau II.5 : Matrice des mélanges de validation.	33
Tableau II.6 : Matrice des mélanges synthétiques.	33
Tableau II.7 : Rendement d'extraction des huiles essentielles obtenues par HD.	34
Tableau II.8 : Bandes caractéristiques de l'H.E de menthe poivrée pure.	38
Tableau II.9 : Bandes caractéristiques de l'H.E de lavande pure.	39
Tableau II.10 : Bandes caractéristiques de l'H.E d'eucalyptus pure.	40
Tableau II.11 : Bandes caractéristiques de formulation 1.	41

Tableau II.12 :	Bandes caractéristiques d'H.E de pin pure.	44
Tableau II.13 :	Bandes caractéristiques de F. 1.	46
Tableau II.14 :	Bandes caractéristiques d'H.E de clou de girofle pure.	48
Tableau II.15 :	Bandes caractéristiques d'H.E de thym pure.	49
Tableau II.16 :	Bandes caractéristiques d'H.E de camomille pure.	50
Tableau II.17 :	Bandes caractéristiques de F.3.	51
Tableau II.18	Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de clou de girofle.	54
Tableau II.19 :	Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de thym.	55
Tableau II.20 :	Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de Camomille.	56
Tableau II.21 :	Résumé des paramètres de modèle PLS I pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m.	58
Tableau II.22 :	Résumé des paramètres de modèle PLS II pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m	59
Tableau II.23 :	Résumé des paramètres de modèle PLS III pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m.	60
Tableau II.24 :	Analyse mélanges synthétiques de clou de girofle, thym et camomille basé sur le modèle optimisé.	62
Tableau II.25 :	Teneur des huiles essentielles clou de girofle, thym et camomille dans les formulations commerciales.	64
Tableau II.26 :	Résultats du calcul de l'exactitude en (%) par la méthode des ajouts dosés.	67
Tableau II.27 :	Evaluation écologique ATR-IRTF.	68

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR :	Association Française de Normalisation.
ATR :	Attenuated Total Reflectance (Réflexion totale atténuée).
Com :	Commercial.
CH₂CL₂ :	Dichlorométhane.
Cm :	Centimètre.
CLUP	Chromatographie liquide ultra performance
E % :	Exactitude.
EV :	Entrainement à la vapeur.
g :	Gramme.
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
HCA :	Analyse en composantes hiérarchique.
HD :	Hydrodistillation.
HE :	Huile essentielle.
H.E A.m :	Huile essentielle camomille.
H.E L. g :	Huile essentielle de clou de girofle.
H.E T.h :	Huile essentielle de thym.
HPLC :	Chromatographe liquide à haute performance.
H.T :	Huile de tournesol.
HV :	Huile végétale.
IRTF :	Infrarouge à transformée de Fourier.
IR :	Infrarouge ou spectroscopie infrarouge.
L :	Litre.

LD :	Limite de détection.
LQ :	Limite de quantification.
LV :	Variables latentes.
MIR :	Infrarouge moyen.
Mol :	Mole.
NRDC:	National Research Development Corporation.
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé.
PCA :	Analyse en composantes principales.
PCR :	Principal Composant Régression (Régression sur composantes principales).
PLS:	Partial Least Square.
PLS-DA :	Analyse discriminante par moindres carrés partiels.
PLSR :	Régression par moindres carrés partiels.
R% :	Le rendement d'extraction.
R² cal :	Coefficient de corrélation de la Calibration.
R² CV :	Coefficient de corrélation de la validation croisée.
RMSEC :	Erreur quadratique Moyenne de calibration.
RMSECV :	Erreur quadratique Moyenne de la validation croisée.
RMSEP :	Erreur quadratique Moyenne de prédiction.
R²pred:	Coefficient de corrélation de la prédiction.
RSD :	Déviatiion standard relative.
SIMCA :	Soft Independent Modeling of Class Analogy (Modélisation Indépendante et Souple par Analogie).
T% :	Taux d'humidité.
µl :	Micro-litre.
UV-VIS :	Ultraviolet-visible.

Introduction générale

Les plantes aromatiques, médicinales et les épices sont utilisés à travers le monde depuis des siècles, dans des domaines variés tels que l'alimentation, la cosmétique, la pharmacie et l'agroalimentaire. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80 % de la population mondiale recourt principalement à des remèdes à base de plantes, et environ 40 % des produits pharmaceutiques dérivent de composés d'origine végétale. [1].

Les huiles essentielles sont des extraits obtenus à partir de plantes, chacune possédant un arôme qui lui est propre. Elles sont constituées de mélanges de composés aromatiques volatiles et odorants, naturellement présents en faible quantité dans les végétaux. Très riches en arômes et hautement volatiles, elles se transforment rapidement de l'état liquide à l'état gazeux au contact de l'air [2].

Actuellement, les huiles essentielles connaissent un engouement croissant à l'échelle mondiale, en raison de la demande accrue pour des ingrédients naturels et purs dans divers secteurs. De grandes quantités sont produites pour répondre aux besoins des industries des arômes, des parfums, des cosmétiques, mais aussi dans le domaine de la santé, notamment en aromathérapie et en phytothérapie [3]. Les méthodes d'extraction les plus couramment utilisées sont l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur [4-6].

Les huiles essentielles, largement utilisées en aromathérapie, cosmétique et pharmacologie, doivent être manipulées avec précaution en raison de leur forte concentration en composés actifs. Pour un usage topique, les normes professionnelles recommandent une dilution maximale de 10 % dans une huile végétale [7,8], afin de garantir la sécurité des utilisateurs. Il est donc essentiel de vérifier la composition et la conformité de ces mélanges à l'aide de techniques analytiques fiables. La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est généralement considérée comme la méthode la plus utilisée et la plus performante pour l'analyse des huiles essentielles, car elle permet une identification précise des constituants volatils, même à faible concentration. Toutefois, cette technique reste complexe, coûteuse et nécessite une préparation d'échantillons spécifique.

La spectroscopie infrarouge, notamment la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), est une méthode analytique couramment utilisée pour l'identification et la caractérisation des composés organiques. Elle repose sur l'absorption du rayonnement infrarouge par les liaisons chimiques des molécules [9]. Elle est utilisée dans différents domaines tels que la chimie, la pharmacie, la cosmétique, l'agroalimentaire, l'environnement et

le biomédical. Elle permet l'identification des composés, le contrôle qualité, la détection de fraudes ou de polluants, ainsi que l'analyse de formulations complexes [10-12].

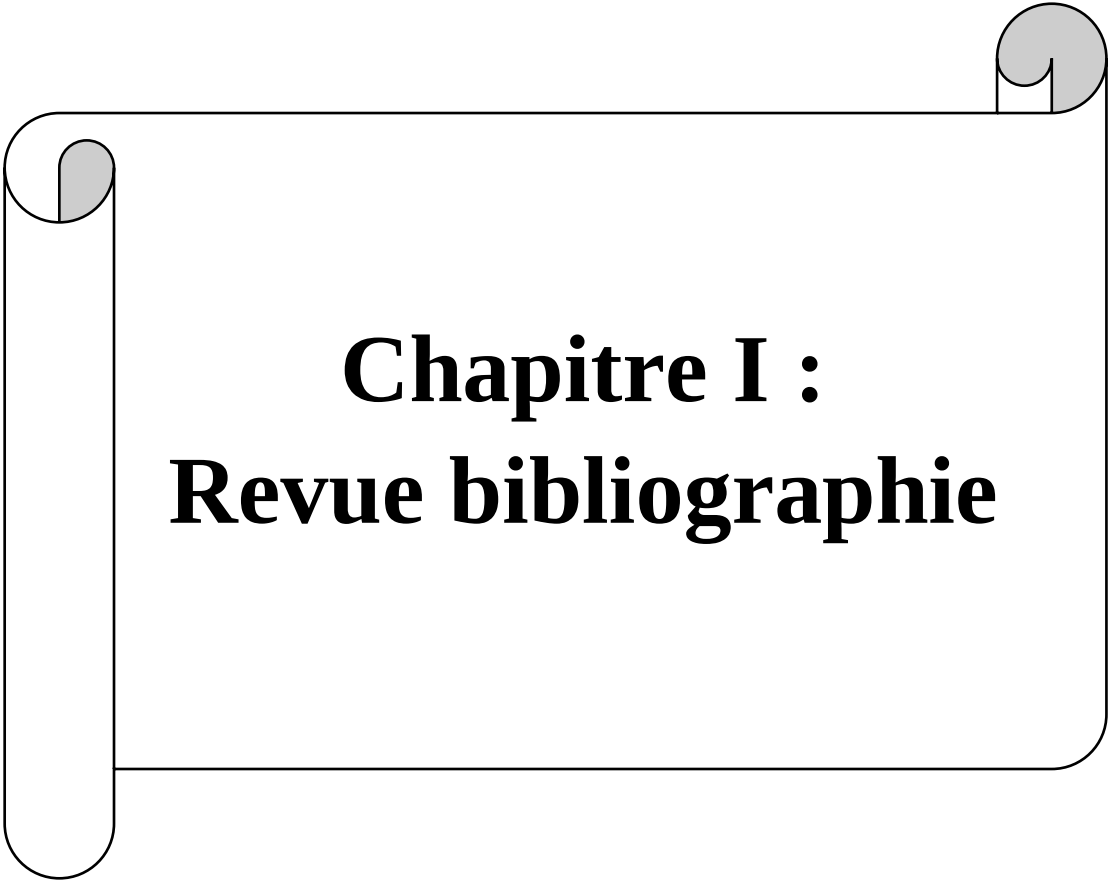
Dans notre étude, nous avons choisi d'utiliser la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en mode réflexion totale atténuée (FTIR-ATR), une méthode rapide, non destructive et simple à mettre en œuvre. Elle permet d'analyser qualitativement et quantitativement les huiles essentielles et les formulations à base de ces huiles.

L'analyse chimique utilisant la spectrophotométrie repose sur la collecte rapide d'un très grand nombre de données spectrales, souvent de l'ordre de plusieurs centaines à plusieurs milliers. Pour interpréter efficacement ces données complexes, on fait appel à la chimiométrie, une discipline qui applique des méthodes mathématiques, et plus particulièrement statistiques, à l'analyse des données analytiques. Parmi les approches chimiométriques, la régression par moindres carrés partiels (PLS) est la méthode la plus couramment utilisée pour le traitement des spectres obtenus par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).

L'objectif de notre travail est d'analyser qualitativement et quantitativement les formulations à base d'huiles essentielles à l'aide de la spectroscopie FTIR-ATR, vérifier la conformité aux normes de dilution recommandées pour un usage topique ($\leq 10\%$ d'HE), mettre en évidence l'intérêt des outils analytiques modernes dans le contrôle de qualité des préparations à base d'HE.

Ce travail s'articule en deux chapitres essentiels, le premier chapitre est consacré la recherche bibliographique portant sur les généralités sur les plantes aromatiques et médicinales et les huiles essentielles, les procédés d'extraction des huiles essentielles et la technique d'analyse spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier en mode ATR. Il présente également une synthèse bibliographique des travaux antérieurs effectués sur les différentes méthodes d'extraction et différentes techniques d'analyse des huiles essentielles.

Le deuxième chapitre est consacré à l'étude expérimentale. Il contient l'extraction par hydrodistillation, l'analyse qualitative des huiles essentielles, les méthodes de calibration monovariée et multivariée, notamment PLS-R, ainsi que les paramètres de validation du modèle développé. Les résultats expérimentaux ont fait l'objet d'une analyse critique et d'une discussion approfondie avant la conclusion.



Chapitre I :

Revue bibliographie

Introduction sur les plantes médicinales et aromatiques

Les plantes représentent une source essentielle de médicaments. Sur environ 250 000 espèces végétales supérieures recensées dans le monde, plus de 80 000 sont utilisées à des fins médicinales. Elles jouent un rôle central dans la médecine traditionnelle, la phytothérapie, et contribuent à la sécurité sanitaire ainsi qu'aux moyens de subsistance de nombreuses populations [13].

Selon la dixième version de la Pharmacopée française, les plantes médicinales «sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses». Une définition officielle en est donnée par la jurisprudence : "une plante est dite médicinale lorsqu'elle est inscrite à la pharmacopée et que son usage est exclusivement médicinal [14].

Ce ne sont généralement pas les plantes entières qui sont utilisées, seules certaines parties de la plante sont exploitées selon leurs propriétés (racine, feuille, fruit, etc.), entre autres. Chacune a des usages thérapeutiques distincts [13].

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 [1]. Plus de 80 % de la population mondiale a actuellement recours aux remèdes traditionnels, notamment aux plantes locales, pour traiter diverses affections et maladies.

Les plantes médicinales, utilisées comme remèdes à base de plantes, constituent une ressource essentielle, notamment pour les groupes les plus fragiles, les plus pauvres, pour qui les préparations pharmaceutiques sont inabordables [15].

I.1. Présentation de quelques plantes médicinales et aromatiques

La littérature montre la présence de diverse plantes médicinales et aromatiques réparties dans le monde entier.

Le tableau I.1 représente des informations sur quelques plantes aromatiques et médicinales de clou de girofle, thym, menthe poivre, lavande et camomille romaine. Il combine le nom commun et scientifique, la famille botanique, l'origine, la description botanique, la composition chimique et l'utilisation de chaque plante.

Tableau I.1 : Présentation de quelques plantes médicinales et aromatiques

Nom commun	Nom scientifique	Famille	Origine	Description botanique	Composition chimique	Utilisation	Réf
Menthe poivre 	Mentha piperita	Lamiaceae	Originaire d'Europe, cultivée également en Amérique et dans d'autres régions	Plante vivace et vigoureuse, aux tiges violacées, feuilles dentées et fleurs pourpres, elle se distingue par son arôme tenace et sa saveur fraîche.	• Polyphénols • Flavonoïdes • Minéraux • Acides phénoliques Acide caféique, acide rosmarinique	Utilisées en tisane, soulager les douleurs musculaires et traiter certains problèmes de peau comme l'acné ou la démangeaison	[16-18]
Thym 	Thymus vulgaris		Sud de l'Europe et largement cultivée en Afrique du Nord et en Asie.	Un petit buisson vivace de moins de 40 cm, aux tiges ligneuses et aux petites feuilles aromatiques, dont l'aspect et l'odeur varient selon les variétés	• Phénoliques, • Trapézoïdes principalement le thymol, l'eugénol et les saponines.	Traiter la toux, le rhume, les infections respiratoires, les troubles digestifs et le diabète.	[19,20]
Lavande 	Lavandula angustifolia		La lavande officinale est originaire de la Méditerranée et naturalisée en Europe, Australie et États-Unis	Plante sous-arbustive de 20 à 80 cm, avec racine pivotante, tiges courtes, feuilles étroites, et hampes florales fines portant un épi unique aux bractées brun jaunâtre nervurées.	• Linalol • Acétate de linalyle • Camphre • Limonène • Coumarines • Cinéole • Flavonoïdes	soulager le stress, l'insomnie et les troubles digestifs, et s'utilise aussi en externe contre les névralgies, comme antiseptique et pour améliorer la santé de la peau.	[21-24]

Clou de girofle 	<i>Syzygium aromaticum</i>	Myrtaceae	Originnaire des îles Moluques en Indonésie et des Philippines et en Tanzanie.	Un arbre aromatique de taille moyenne, au feuillage dense et persistant. Ses feuilles ovales et brillantes sont parfumées. Ses boutons floraux séchés, appelés clous de girofle, sont riches en eugénol et très odorants.	• Phénoliques • Les flavonoïdes • les acides hydroxybenzoïques • les acides hydroxycinnamiques • Les terpénoïdes.	Le clou de girofle est reconnu comme une épice pouvant servir de conservateur naturel	[18, 25-27]
Camomille Romanie 	<i>Chamaemelum nobile</i>	Asteraceae	Originnaire d'Europe de l'Ouest, elle s'est répandue en Afrique du Nord, en Asie, puis en Australie et en Amérique du Nord	une plante rampante de 30 cm, à racine vivace, tiges velues et ramifiées, et feuilles fines et plumeuses. Ses fleurs solitaires, blanches à gris-jaune, sont composées de fleurons ligulés sur un réceptacle conique.	• L'eau 80% • Matière minérale 7% • Sesquiterpènes • Flavonoïdes • Coumarines • Acides phénoliques, • Triterpènes	Disponible en tisane, extrait ou gélule, cette plante est reconnue comme arôme naturel. Elle est utilisée contre les troubles digestifs, les douleurs, les problèmes de peau et les névralgies.	[28-30]

I.2. Huile essentielles

I.2.1. Généralités sur les huiles essentielles

Une huile essentielle est un liquide concentré en substances, obtenu par extraction ou distillation de molécules volatiles de la plante d'origine. On retrouve majoritairement des terpénoïdes et des molécules aromatiques.

Selon la norme NF T 75-006 de l'Association Française de Normalisation (AFNOR) et la Pharmacopée Européenne 7ème édition, une huile essentielle est définie comme « le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur et hydrodistillation, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche ». Ensuite, des méthodes physiques sont utilisées pour séparer l'huile essentielle de la phase aqueuse [3].

La figure I.1 représente les parties de plante aromatique pouvant contenir de l'huile essentielle. Elles se présentent majoritairement dans fleurs, feuilles, fruits, racines, rhizomes, graines, les tiges, le bois et l'écorce. Certaines cellules végétales spécialisées se forment dans le cytoplasme. Il est possible de les conserver et stocker dans différentes structures de la plante telles qu'on trouve des poils glandulaires ou trichomes, les cellules épidermiques ou les cellules sécrétrices. Les organes internes, les poches sécrétrices et les canaux sécréteurs [31,32].

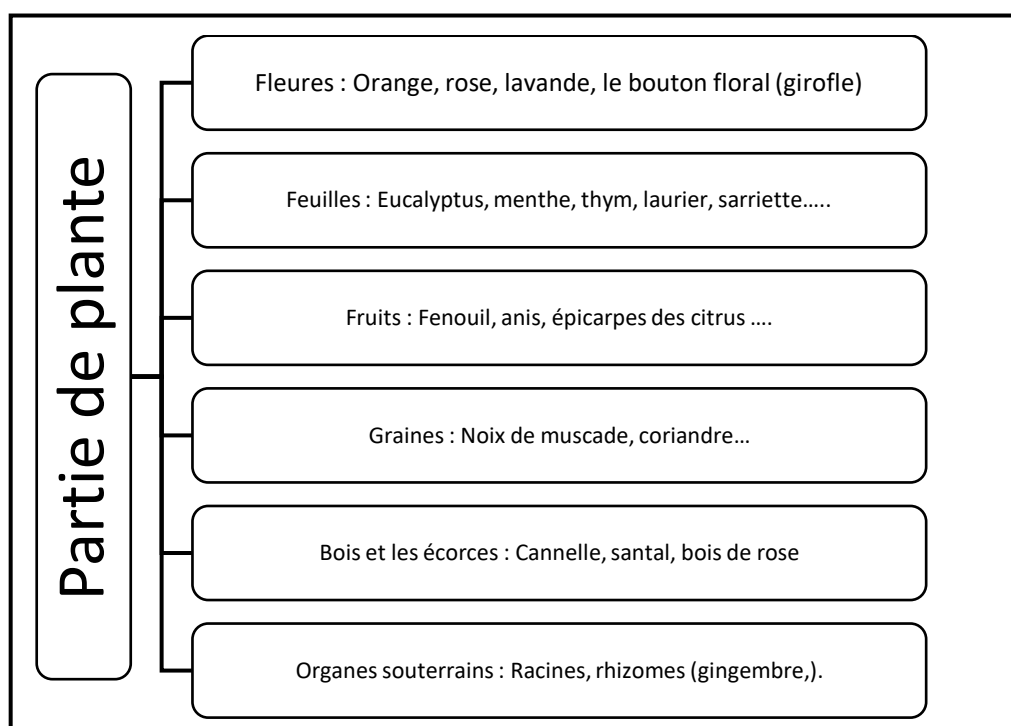


Figure I.1 : Parties de la plante aromatique peuvent contenir de l'huile essentielle

I.2.2. Composition des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes de composés aromatique volatils [22]. Les huiles essentielles sont essentiellement réparties en deux catégories de composés odorants identifiés par leurs origines biogénétiques spécifiques et selon le processus métabolique (nombre de carbone). On distingue les terpènes (monoterpènes et sesquiterpènes), qui dominent dans la majorité des essences, ainsi que les composés aromatiques (dérivés du phénylpropane comme les esters, phénols, aldéhydes, etc.) [33, 36]

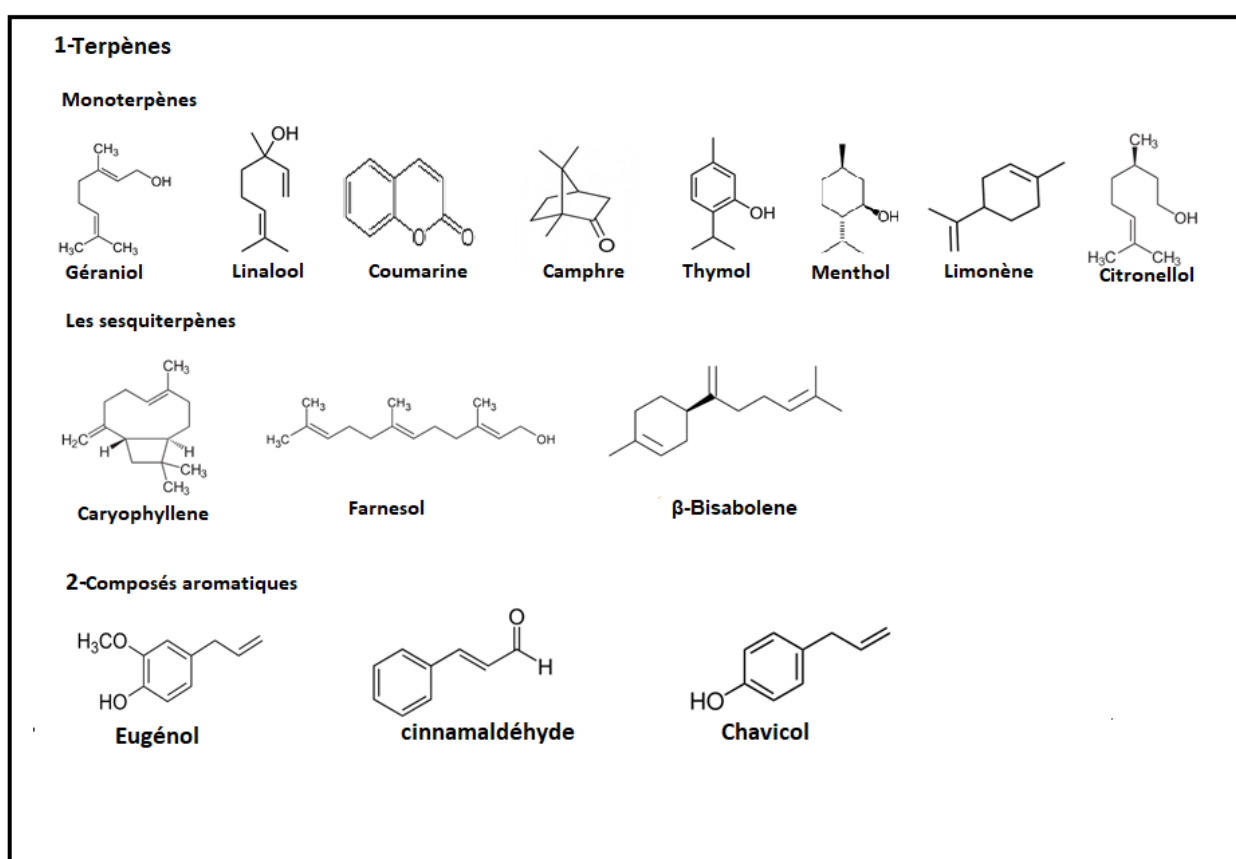


Figure I.2 : Structure chimique de quelques composés chimiques des huiles essentielles.

I.2.3. Domaine d'application des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont utilisées dans des différents domaines en pharmacie, agro-alimentaire, cosmétologie, parfumerie et aromathérapie.

a. Pharmacie

Les huiles essentielles ont un grand intérêt en pharmacie et sont utilisées sous la forme de préparation galénique. La majorité des constituants d'huile essentielle sont lipophiles, C.-à-d., rapidement absorbés que ce soit par voie pulmonaire, par voie cutanée ou par voie digestive. Elles sont utilisées contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures [37, 38].

b. Agro-alimentaire

Dans le secteur de l'alimentation, les huiles essentielles servent à améliorer la saveur des produits et à prolonger leur durée de conservation grâce aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes de quelques-uns de leurs ingrédients. Ces agents naturels servent à diminuer ou substituer les conservateurs chimiques ou artificiels qui ont des impacts négatifs sur la santé.

Effectivement, l'usage d'antioxydants de synthèse comme l'hydroxytoluène butilé (BHT) et l'hydroxyanisole butilé (BHA) est suspecté sur le long terme d'être mutagène et cancérigène [39].

c. Cosmétologie et parfumerie

La plus grande consommation d'huiles essentielles se fait dans le domaine des cosmétiques, de la savonnerie et des parfums. D'après le National Research Development Corporation (NRDC), il constitue 60 % de l'ensemble de la demande en substances naturelles. Ce domaine se distingue par une vaste gamme de produits, généralement en petites quantités et à des prix souvent élevés. Les huiles essentielles servent de matière première dans la production de parfums et d'autres articles cosmétiques [39].

d. Aromathérapie

L'aromathérapie est une pratique de médecine alternative où les huiles essentielles jouent un rôle important en raison de leurs multiples effets de guérison. De plus en plus, elles sont employées dans diverses spécialités médicales comme : la podologie, l'acupuncture, la masso-kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie et même dans le domaine de l'esthétique [39].

I.2 .4. Principales méthode d'extraction d'huile essentielle

Il existe plusieurs méthodes de préparation des huiles essentielles. Les méthodes les plus utilisées sont hydro-distillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.

a. Distillation par entraînement à la vapeur

L'obtention de la majorité des huiles essentielles se fait par distillation à la vapeur d'eau.

La distillation s'appuie sur la caractéristique des huiles essentielles de devenir volatiles lorsqu'elles sont chauffées, permettant à l'huile d'être transportée par la vapeur d'eau.

Suite à la condensation, L'huile essentielle est séparée du distillat par le processus de décantation. Le manque de contact direct entre l'eau et le matériau végétal, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains processus d'hydrolyse ou de décomposition susceptibles de compromettre la qualité de l'huile[40].

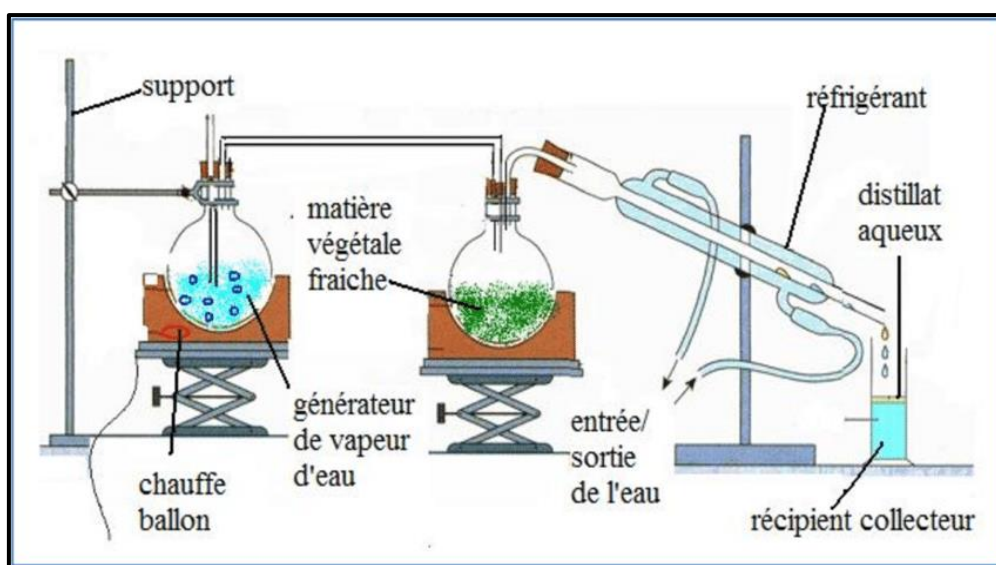


Figure I.3 : Montage d'entraînement à la vapeur d'eau [40].

b. Hydro-distillation

L'hydro-distillation (HD) est une variante de la distillation à la vapeur d'eau, recommandée par la Pharmacopée française pour l'extraction des HE d'épices séchées et le contrôle qualité des HE en laboratoire. Au lieu d'utiliser de la vapeur d'eau, les matières végétales en HD sont directement immergées dans l'eau. Ce mélange solide-liquide est ensuite chauffé jusqu'à ébullition sous pression atmosphérique dans un alambic, où la chaleur permet la libération de molécules odorantes dans les cellules végétales. Ces composés aromatiques volatils et l'eau forment un mélange azéotropique « Un mélange azéotropique est un mélange de deux liquides (comme l'eau et les huiles essentielles) qui s'évapore à une température constante. Dans ce cas, la vapeur a la même composition que le liquide, ce qui permet de les entraîner ensemble lors de la distillation », qui peut être évaporé ensemble à la même pression, puis condensé et séparé dans une fiole florentine grâce à leur immiscibilité et leur

différence de densité. De plus, un système de cohobation permet de recycler l'eau distillée par siphon afin d'améliorer le rendement et la qualité des HE. Il est important de noter que les HE récupérées diffèrent de l'essence originale en raison de la longue durée du traitement [41]. Le dispositif de type Clevenger, recommandé par la Pharmacopée Européenne, permet d'extraire les huiles essentielles par hydrodistillation avec recyclage de l'eau (cohobation). Après condensation, l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation grâce à leur différence de densité, permettant une récupération efficace de la phase huileuse [42,43].

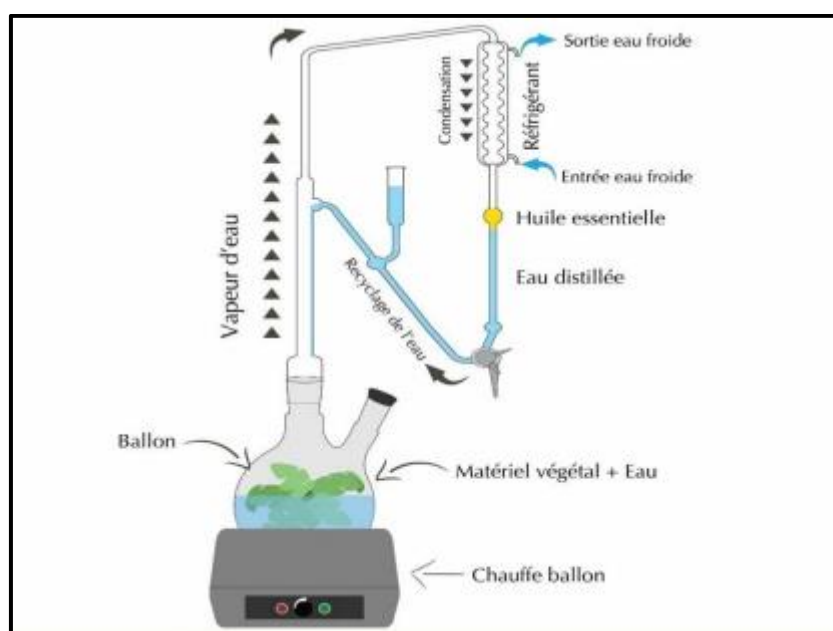


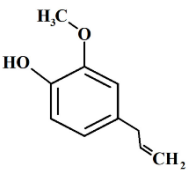
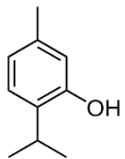
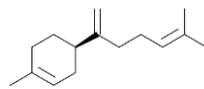
Figure I.4 : Montage d'extraction par hydro distillation [42].

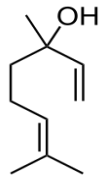
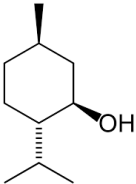
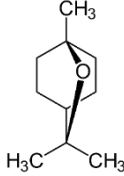
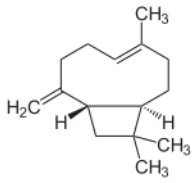
I.2.5.Effets des huiles essentielles

Des recherches ont montré que les huiles essentielles présentent des activités importantes telles qu'anti-oxydantes, antifongiques, antibactériennes et anti-inflammatoires [44].

Les huiles essentielles possèdent des propriétés spécifiques grâce à sa composition chimique. Le tableau I.2 représente plusieurs huiles essentielles en fonction de l'origine, l'effet et les principaux composés actifs qu'elles contiennent

Tableau I.2 : Présentation de quelques huiles essentielles.

Huile essentielle	Description	Effets	Composition chimique	Référence
Clou de girofle 	Couleur jaune brun et plus dense que l'eau. C'est un naturel analgésique qui utilisée majoritairement en dentisterie.	• Antibactérienne • Antifongique • Antioxydant • Antiseptique • Anti-inflammatoire • Antispasmodique • Soulager la douleur	• 70 à 85% d'eugénol. • 15% d'acétate eugényle. • 5 à 12% de β-caryophyllène.	[18, 25,-27, 45-49]
Thym 	Obtenue par distillation des fleurs du <i>Thymus vulgaris</i> . C'est un liquide limpide, de couleur jaune à brun-rouge, à l'odeur chaude et typique du thym.	• Antioxydant • Anti-inflammatoire • Antiseptique • Antibactérienne • Antifongique	• 30 – 65 % de Thymol • 5 – 15 % de p-Cymène • 5 – 30 % de γ-Terpinène • 1 – 8 %de Carvacrol • Linalol, • borneol • thymol-acétate	[18,20, 49, 50-54]
Camomille 	Obtenu par distillation à la vapeur d'eau des fleurs (capitules), reconnue par la Pharmacopée Européenne.	• Anti-inflammatoire • Antiseptique • Antispasmodique • Soulage la douleur • Antirhumatismal • Relaxant	• α-bisabolene • chamazulène • 1,8-cinéole. • Coumarines • Acides phénoliques	[18, 28-,49]

Lavande 	Obtenue par distillation des fleurs, se distingue par son arôme doux et subtil. Très peu toxique, elle est considérée comme sûre à l'usage.	• Antimicrobiennes • Antioxydant • Anti-inflammatoire • Antiseptique • Relaxant • Soulager maux de tête	• 20–45 % de Linalol • 25–46 % d'Acétate de linalyle • 1.2% de Camphre • 0.1 % de Lavandulol • Limonène • Eucalyptol	[18, 22, 55-57]
Menthe poivrée 	Obtenue par distillation des feuilles fraîches ou séchées. C'est un liquide huileux, clair à verdâtre, au parfum et goût frais typiques.	• Antibactérienne • Antifongique • Antioxydant • Relaxant • Antispasmodique • Soulager maux de tête • Anti-inflammatoire	• 30 à 55% de menthol • 14 à 32% de menthone • 1,5 à 10% d'isomenthone • 1 à 8% de menthofurane • 2,8 à 10% d'acétate de menthyle	[18, 32, 49, 58-60]
Eucalyptus 	Obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et rameaux. C'est un liquide, de couleur jaune à jaune pâle et dégage une forte odeur de 1,8-cinéole.	• Antimicrobienne • Antioxydant • Antiviral • Anti-inflammatoire • Antiseptique	• 65 à 70% de 1,8-cinéole • 0,05 à 10 % de α-pinène • 0,05 à 1,5 % de β-pinène • 0,05 à 15% de limonène	[18, 26, 17, 61, 62]
Pin d'Alep 	Une substance aromatique obtenue par distillation à la vapeur d'eau des aiguilles et rameaux de cet arbre méditerranéen. Elle se distingue par son parfum résineux et boisé.	• Antibactérienne • Antifongique • Anti-inflammatoire • Antiseptique • Antioxydant	• 25.90% de β Caryophyllene • 10.90 à 13.70% de α pinene • 20.20 à 24.10% de myrcene • 10.50 à 11.90% de p cymene • 10.50 à 12.50% de caryophyllene oxide	[49, 63-65]

I.2.6.Recommandations et les normes

Les huiles essentielles ne sont pas utilisées concentrées. Une dilution de ces dernières est recommandée selon le contexte d'utilisation (tableau I.3).

Tableau I.3 : Taux de dilution recommandés des huiles essentielles selon le type d'usage.

Contexte d'utilisation	Taux de dilution recommandé	Remarques	Réf.
Application topique thérapeutique (douleurs musculaires, articulaires)	3–10%	Selon la tolérance cutanée	[7]
Application sur grandes surfaces ou personnes sensibles	1–3%	Usage prolongé ou peau fragile	
Formulations thérapeutiques localisées et de courte durée	Jusqu'à 10%	Choix de l'huile porteuse important pour la tolérance	[66]
Usage cosmétique quotidien	0.5–5%	Pour produits naturels/biologiques	[8]
Produits non quotidiens ou à visée thérapeutique locale	Jusqu'à 10%	Baumes, crèmes ciblées	
Formules en aromathérapie professionnelle	5–10% (voire plus ponctuellement)	Formulations précises selon indication : infections, douleurs, troubles cutanés, etc.	[67]

I.3.Analyse par spectroscopie infrarouge

Introduction

La spectroscopie infrarouge prend naissance en 1800 avec la découverte du rayonnement infrarouge par William Herschel. Elle devient un outil analytique majeur dès 1905, grâce aux travaux de William W. Coblentz sur les vibrations moléculaires, ouvrant la voie à de nombreuses applications en recherche et en technologie [68].

Les premières avancées instrumentales en spectroscopie infrarouge apparaissent dans les années 1930-1940. L'équipement moderne se développe dès les années 1950, avec une large diffusion à partir des années 1960 [69].

L'arrivée des premiers spectromètres infrarouges pour la recherche dans les années 1970 a marqué un tournant majeur. Dès les années 1980, leur miniaturisation et leur simplification ont permis une utilisation de routine plus large, notamment grâce à des instruments compacts, économiques et faciles à manipuler. Parallèlement, les avancées en électronique ont favorisé le développement et la démocratisation de la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

(IRTF). Aujourd'hui, cette technique est largement utilisée pour l'identification de composés, le contrôle de pureté, la surveillance de processus industriels et les analyses quantitatives. Elle constitue également un outil clé en chimométrie, avec des applications dans de nombreux domaines scientifiques et industriels [70].

I.3.1.Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une méthode d'analyse basée sur l'interaction des atomes et des molécules avec le rayonnement du domaine infrarouge du spectre électromagnétique [71]. Ce rayonnement se caractérise par sa fréquence, exprimée en hertz (Hz), ou par son nombre d'onde, généralement indiqué en centimètres inverses (cm^{-1}), également appelés Kaysers[64]. Elle constitue une technique fondamentale en spectroscopie et connaît une large gamme d'applications grâce à la diversité des méthodes d'absorption. Il est relativement aisé d'obtenir des spectres à partir de solutions, d'échantillons solides ou gazeux.

Un spectre infrarouge est généralement obtenu en mesurant le passage du rayonnement infrarouge à travers un échantillon et en déterminant les fractions absorbées à des longueurs d'onde spécifiques. L'intensité de l'absorption est directement liée à une énergie particulière [72].

L'infrarouge se subdivise en trois parties, l'infrarouge proche (NIR) situé entre 13 000 et 4 000 cm^{-1} , l'infrarouge moyen (MIR) situé entre 4 000 et 200 cm^{-1} , et l'infrarouge lointain (FIR) situé entre 200 et 10 cm^{-1} [71].

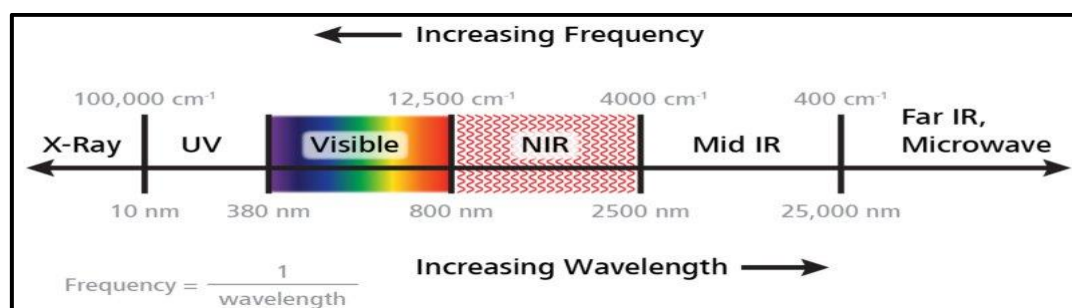


Figure I.5 : Répartition des rayonnements dans le spectre électromagnétique, avec mise en évidence des régions infrarouges (NIR, Mid IR, Far IR) [73].

I.3.2.Principe de fonctionnement de spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique utilisée pour obtenir des spectres d'absorption ou de transmission d'un échantillon afin d'identifier et de caractériser ses composants chimiques.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) repose sur l'utilisation d'un interféromètre de Michelson qui divise un faisceau de lumière infrarouge, puis le recombine pour produire des interférences. Ce faisceau traverse l'échantillon, et les molécules absorbent certaines fréquences caractéristiques de leurs liaisons chimiques. La FTIR permet de collecter simultanément des données sur une large plage de longueurs d'onde, ce qui augmente considérablement la rapidité et la sensibilité des analyses. Les données obtenues sous forme d'interférogramme ne sont pas directement exploitables et nécessitent une transformation mathématique, la transformée de Fourier, qui convertit le signal en un spectre précis montrant les fréquences d'absorption caractéristiques des groupes fonctionnels présents dans l'échantillon. Elle offre une haute résolution spectrale et peut être combinée avec des techniques comme la réflexion diffuse ou la spectroscopie ATR pour une analyse plus poussée [74].

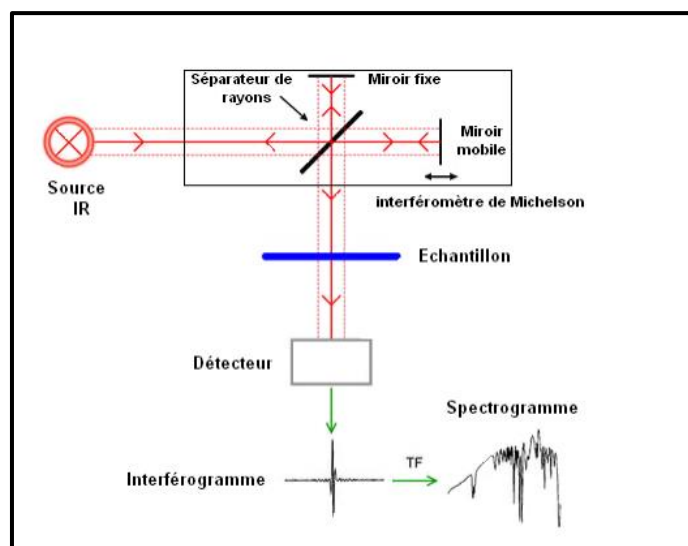


Figure I.6 : Schéma de principe de l'analyse par spectroscopie d'absorption infrarouge [74].

I.3.3. Réflexion totale atténuée ATR (Attenuated Total Reflectance)

La spectroscopie infrarouge par ATR est une méthode simple, rapide et non destructive, nécessitant peu de préparation. Elle repose sur l'absorption partielle de la lumière IR par un échantillon posé sur un cristal. Contrairement à la méthode de transmission, elle analyse seulement la surface de l'échantillon. Bien que les spectres obtenus diffèrent selon la technique utilisée, ces variations peuvent être corrigées par traitement informatique pour une comparaison fiable [75].

Le principe de l'ATR consiste à faire subir au faisceau IR une ou plusieurs réflexions à l'interface entre un matériau transparent dans l'IR, d'indice de réfraction élevé, et l'échantillon en contact intime avec le cristal. Pour un angle d'incidence supérieur à un angle critique ($\sin \theta_c = \frac{n_2}{n_1}$, n_1 : l'indice du support et n_2 celui de l'échantillon étudié), le faisceau subit une réflexion totale à l'interface. À chaque réflexion, une onde évanescente est générée au niveau de l'échantillon au contact du cristal. Elle pénètre faiblement dans l'échantillon à une profondeur qui dépend de la longueur d'onde, des indices de réfraction du cristal et de l'échantillon et de l'angle de l'incidence. Il se produit ainsi la réflexion interne [76].

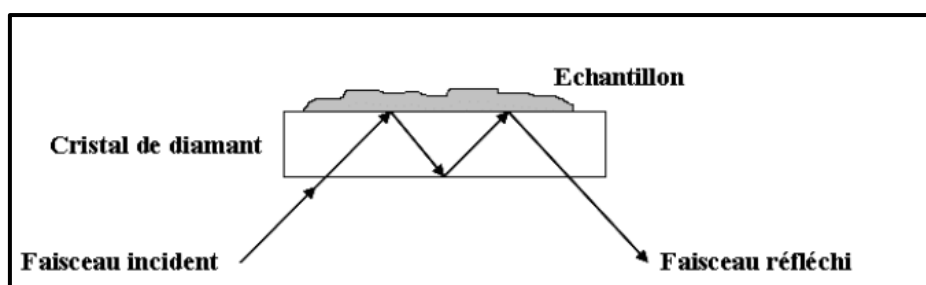


Figure I.7 : Schéma de principe de l'ATR.

I.4. Analyse qualitative

L'analyse qualitative en spectroscopie IRTF se déroule généralement en deux étapes. La première consiste à identifier les principaux groupements fonctionnels présents dans la substance, en particulier dans la région de l'infrarouge moyen (MIR), à l'aide d'atlas de spectres de référence. La seconde étape vise à confirmer la structure moléculaire en comparant l'ensemble du spectre de l'échantillon avec celui d'un composé connu. Une superposition parfaite des spectres permet une identification certaine de la substance, chaque molécule possédant un spectre infrarouge unique, véritable « empreinte digitale » spectrale [1].

I.5. Analyse quantitative

Les principes utilisés pour l'analyse quantitative sont fondamentalement les mêmes pour toutes les méthodes de mesure optique et spectrale. Ces méthodes impliquent la mesure de la quantité d'énergie déduite par la méthode de mesure étant corrélée à une forme physique ou chimique, le plus souvent la concentration d'une espèce à analyser [1].

I.5.1. Loi de Beer-Lambert

Il s'agit d'une loi utilisée en chimie analytique pour mesurer l'absorbance d'un échantillon particulier. Elle permet de déterminer la concentration d'une espèce chimique dans une solution, à partir de cette mesure, tant que l'espèce absorbe la lumière d'une longueur d'onde particulière connue, tel que la loi :

$$A = \varepsilon \times L \times C$$

A : Absorbance.

ε : le coefficient d'absorption molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

L : Trajet optique (cm), et **C** : Concentration de la substance dans la solution ($mol \cdot L^{-1}$) [77].

En analyse quantitative, on distingue deux types de calibrations : la calibration monovariante et la calibration multivariante

I.5.2. Principe de la calibration monovariante

La calibration monovariante permet d'établir une relation entre une grandeur mesurée (comme l'absorbance) et la concentration d'un composé. Elle se fait en deux étapes : d'abord, on mesure la réponse analytique d'échantillons de concentration connues, puis on construit une

courbe de calibration. Cette courbe permet ensuite de déterminer la concentration d'un échantillon inconnu en mesurant sa réponse et en l'interpolant sur le graphique [1].

I.5.2.1.Caractéristique analytique d'étalonnage

a.Limite de détection (LD)

La limite de détection représente la plus petite quantité d'analyte que la méthode peut détecter, sans pouvoir la quantifier avec précision.

$$LD = \frac{(3 \times \delta)}{a}$$

Où : δ est l'écart type du signal du blanc, a est la pente de la droite d'étalonnage [78,79].

b.Limite de quantification (LQ)

La limite de quantification est la plus faible concentration d'un analyte dans un échantillon pouvant être déterminée avec une précision et une exactitude acceptables

$$LQ = \frac{(10 \times \delta)}{a}$$

Où : δ est l'écart type du signal du blanc, a est la pente de la droite d'étalonnage [78,79]

c.L'écart type relatif

Il représente l'erreur relative entre les différentes mesures par rapport à leur moyenne.

$$RSD = \frac{(\delta \times 100)}{\bar{X}}$$

Où δ est la variance et $\bar{X}$ la moyenne de 10 spectres d'un échantillon ayant une concentration médiane [80].

d-Domaine dynamique

C'est le domaine de concentration utilisé pour établir les spectres et une droite de calibration à une unité définie. Le domaine linéaire est l'intervalle de concentrations dans lequel la réponse est directement proportionnelle à la concentration de l'analyte, suivant une relation linéaire.

I.6.Méthodes de calibrage chimiométrique des spectrophotomètres

La chimiométrie est une discipline qui applique des méthodes statistiques multivariées et des principes métrologiques pour optimiser l'extraction d'information à partir de données complexes. Elle est particulièrement utilisée en chimie analytique, notamment dans l'analyse de données issues de techniques séparatives (comme la chromatographie et l'électrophorèse) et spectroscopique (telles que la spectroscopie Raman, IRTF, SPIR et VIS-SPIR) [1].

Les méthodes analytiques les plus couramment utilisées dans la spectroscopie infrarouge sont les suivantes :

- . Régression des moindres carrés classique (CLS)
- . Régression des moindres carrés inverse (ILS)
- . Régression des moindres carrés partiels (PLS)
- . Régression des moindres carrés principaux (PCR) [82].

I.6.1. Principe de la calibration PLS multivariable (partial least squares)

La régression PLS (Partial Least Squares Régression) est une méthode statistique qui permet de relier un grand nombre de variables indépendantes à des variables dépendantes.

Elle repose sur une analyse en composantes principales, où elle sélectionne les variables les plus pertinentes pour optimiser la prédiction des résultats. Son objectif est de séparer le signal du bruit dans les données afin d'améliorer l'analyse et la précision des prévisions. Elle utilise des logiciels [81].

a .Logiciel ‘OMNIC ‘

Le logiciel OMNIC a été utilisé pour lire les spectres de plusieurs échantillons, y compris un blanc. Il permet d'obtenir la moyenne et la variance de 10 mesures du blanc, ainsi que les spectres des échantillons avec différentes concentrations. Ces données ont servi à déterminer les paramètres analytiques de la méthode

b. logiciel TQ Analyst

TQ Analyste est un logiciel utilisé en spectroscopie infrarouge pour faire des analyses quantitatives et qualitatives à partir de spectres. Il permet de créer des modèles de calibration, de tracer des droites d'étalonnage selon la loi de Beer-Lambert, et d'interpréter les données spectrales traitées au préalable avec le logiciel OMNIC.

I.6.2- Paramètres analytiques d'un modèle PLS

Le logiciel TQ Analyste présente les résultats sous forme de représentation graphique et afin de valider les méthodes optimisées, le logiciel calcul les paramètres analytiques suivants :

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 [1].

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 [1].

RMSEC (ou Erreur Quadratique Moyenne de Calibration)

C'est une mesure statistique qui évalue la précision d'un modèle lors de la phase de calibration. Il représente l'erreur quadratique moyenne entre les valeurs prédites et les valeurs de référence utilisées pour construire le modèle [1].

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 [1].

I.7. Lien entre la chimie verte et la chimie analytique verte

I.7.1. Principe de la chimie verte

La chimie verte, fondée par Paul Anastase, repose sur douze principes visant à réduire l'impact environnemental des procédés chimiques. Elle privilégie la prévention de la pollution à la source, la substitution des substances dangereuses par des alternatives moins toxiques, l'utilisation de matières premières renouvelables, l'efficacité énergétique et la minimisation des déchets [83].

I.7.2. Chimie analytique verte

La chimie analytique verte vise à minimiser les impacts environnementaux et les risques pour la santé associés aux méthodes analytiques, en réduisant l'utilisation de substances dangereuses, la consommation d'énergie et la production de déchets.

Elle repose sur une approche éthique et durable, soutenue par des travaux de recherche internationaux qui ont contribué à structurer ce domaine en plein essor, avec l'objectif de transformer les pratiques analytiques actuelles [84].

Les méthodes PLS-IRTF, inspirées de la chimie verte, permettent de réaliser des analyses avec moins de produits chimiques, peu de déchets et une consommation d'énergie réduite, que ce soit en laboratoire ou à l'échelle industrielle. Leur impact environnemental peut être évalué à l'aide d'un certificat vert, basé sur des critères tels que la quantité de réactifs, les déchets générés et l'énergie utilisée [85].

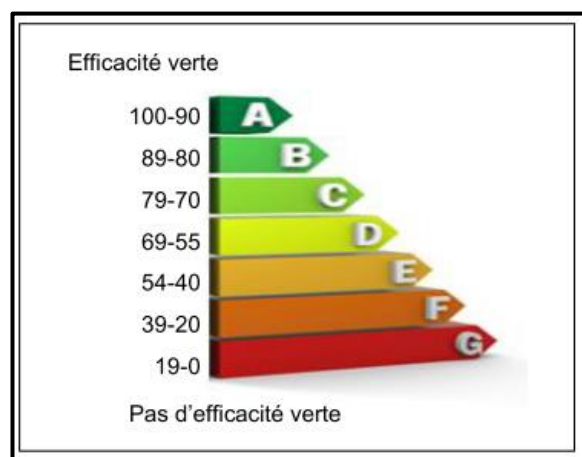


Figure I.8 : Certificat vert « Green certificate » utilisé pour la classification des différentes méthodes analytiques [85].

À partir des données de tableau I.4 et I.5, concernant les points de pénalité liés aux risques des réactifs et à la consommation d'énergie des techniques analytiques, il est possible d'évaluer la méthode utilisée

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 analytique, des exigences de l'assurance qualité et de l'analyse quantitative. Néanmoins, l'utilisation de solution d'étalonnage (étalons internes et externes) contribue à la consommation de réactifs à l'extraction des déchets. Cette contribution à l'extension des déchets ne doit pas être sous-estimée au cours de l'évaluation du caractère écologique des méthodes analytiques [85].

Tableau I.4 : Les points de pénalité pour les risques de certains réactifs [86].

Réactifs	Nombre de pictogramme	Mot de signal	Point de pénalité
Acide acétique (glacial)	1	Danger	4
Acide acétique (30%)	2	Danger	2
Solution d'ammoniac (25%)	3	Danger	6
Acide benzoïque	1	Avertissement	1
Dichlorométhane	1	Avertissement	1

Tableau I.5 : Les points de pénalité pour l'énergie de certaines techniques d'analyse [86].

Technique	Energie utilisé	Points de pénalité
IRTF	<0.1 KWh par échantillon	0
Spectrofluorométrie		
Titration		
CLUP		
Spectrométrie UV-VIS		
SAA	≤ 1.5 KWh par échantillon	1
CG		
CL		
CG-SM	1.5 par échantillon	2
CL-SM		
CL-SM		
RMN		
Diffraction de rayons X		

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

Où : $y = a \times x^b$

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

$a=0.61\pm0.05$ et $b=0.31\pm0.02$ pour la consommation de réactifs

$a=1.50\pm0.08$ and $b=0.40\pm0.02$ pour la génération de déchets).

I.8 Synthèse bibliographique sur les travaux antérieurs

Les tableaux I.6 et I.7 englobent un aperçu sur les techniques d'extraction et d'analyse des huiles essentielles et les méthodes chimiométriques utilisées dans le traitement des données. .

Tableau I.6 : Résumé de travaux antérieurs sur L'extraction des huiles essentielles.

La plante	Technique d'extraction	But	Réf
Coriandre	Hydrodistillation	la modélisation de l'extraction de l'huile essentielle des graines de coriandre par hydrodistillation	[87]
Eucalyptus globulus et Origanum Vulgare	Hydrodistillation	Formulation d'un vicks dermique anti-inflammatoire.	[5]
Romarin.	Soxhlet assisté par micro- onde (SAM)	L'extraction des métabolites secondaire du Romarin	[88]
Lavandin	Ultrasons,micro-onde hydrodistillation .	Comparaison entre différente méthode d'extraction de l'HE de lavandin.	[89]
Camomille	Fluide supercritique CO ₂ (SFE)	Analysé et comparé la méthode de fluide supercritique avec la méthode classique.	[90]
Clou de girofle	Fluide supercritique CO ₂ (SFE)	comparé la méthode de dioxyde de carbone supercritique avec les méthodes classique	[91]
	Micro- onde	Optimiser les paramètres opératoires influençant le rendement en huile essentielle	[92]
Eucalyptus globulus	Entraînement à la vapeur	Optimisation de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle d'Eucalyptus globulus Lab	[6]

Tableau I.7 : Résumé de travaux antérieurs sur l'analyse des huiles essentielles.

Huile essentielle	But	Technique d'analyse	Méthode chimiométrie	Référence
(Mentha Piperita, Mentha Pulegium and Mentha Spicata)	Détermination de la composition chimique d'huile essentielle de menthe	CG-SM	-	[93]
30 huiles différentes famille Asteraceae, les Lamiaceae et autres différents famille	Vérification de la taxonomie et la pureté	GC-SM et IRTF	PCA et HCA	[94]
Lavande	Détection des fraudes	IRTF	PCA	[95]
Clou de girofle	Détection de la fraude (Ajout d'huile de térébenthine)	GC-SM et IRTF	PLS-PCA	[96]
Pin d'Alep	Caractérisation de la composition chimique d'huile essentielle de pin.	CPG	-	[97]
Mentha piperita	Détection l'adultération (Ajout de Mentha spicata et de L-menthol)	ATR-FTIR	HCA, PCA, PCR et PLSR	[98]
Citrus aurantium L	Détection de l'adultération (par l'huile de coco)	IRTF	PCA, PCR, PLSR et PLS-DA	[99]
Huile de patchouli	Détection de l'adultération	IRTF	PLS-DA	[100]
Eucalyptus citriodora, E. globulus	Détermination de la composition chimique	ATR-IR, Raman, FT-Raman	PLS	[101]
Mentha, Cymbopogon, Lavandula, Rosmarinus officinalis et Thymus vulgaris	Identification des huiles essentielles (HE) dans le cadre d'un contrôle de routine	ATR-FTIR	PLS-DA et PCA	[102]
Menthe poivrée et menthe verte	Substitution entre espèces de menthe (adultération botanique)	FTIR-ATR et UV-VIS	PLS-DA et SIMCA	[103]



CHAPITRE II :

Partie expérimentale

Introduction

Les huiles essentielles sont des extraits naturels volatils issus de plantes aromatiques, reconnues pour leurs nombreuses propriétés biologiques, notamment leurs effets antimicrobiens, antioxydants et anti-inflammatoires. Grâce à leur richesse en composés actifs tels que les terpènes, les alcools et les esters, elles sont de plus en plus utilisées dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et thérapeutique. Leur efficacité dépend étroitement de leur composition chimique, qui peut varier en fonction de l'espèce végétale, des conditions de culture, du climat et du mode d'extraction [33].

Dans le but d'étudier ces huiles, de nombreux travaux ont été réalisés pour identifier et quantifier leurs constituants. L'identification et la qualification sont généralement effectuées à l'aide de techniques analytiques avancées telles que la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). Bien que ces méthodes soient précises et essentielles, elles restent coûteuses et nécessitent une instrumentation spécialisée [104-105].

En alternative, la spectroscopie infrarouge (IR), notamment en mode ATR-FTIR, offre plusieurs avantages, elle est rapide, non destructive, facile à mettre en œuvre et nécessite peu ou pas de préparation d'échantillons. Elle permet également une analyse directe des mélanges sans séparation préalable, ce qui en fait une méthode efficace pour le criblage, l'identification rapide et même la quantification des composants présents dans les huiles essentielle.

L'expérimentation a porté sur l'étude d'une formulation commerciale à base d'huiles essentielles, dont l'intérêt économique s'est accru ces dernières années en raison de leur large utilisation. Cette étude concerne l'analyse qualitative et prédictive des huiles essentielles par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (ATR-MIR-TF), combinée à l'analyse par régression PLS (Partial Least Squares), en vue d'un contrôle qualité fiable et rapide des échantillons commerciaux. Le présent travail a été réalisé au laboratoire du département de chimie de la faculté des sciences et au laboratoire de chimie des substances naturelles et biomolécules de l'université de Blida 1.

II.1. Echantillonnage

Les mélanges à base des huiles essentielles ont été ciblés et achetés. Etant donné le faible rendement d'extraction de l'huile essentielle de rose de Damas d'une part et l'absence d'huile essentielle de Gaulthérie sur le marché, nous avons considéré la formulation 3 pour l'analyse quantitativement et qualitativement.

Liste exhaustive des huiles essentielles commerciales obtenues par entraînement à la vapeur ainsi que les composés contenus dans les formulations sont représentés dans les tableaux II.1, II.2 et II.3.

Tableau II.1 : Composition de formulation 1

	Composition	Code	Pureté	Pays	Remplissage	Quantité (ml)	Prix (DA)	Remarque
H.E	Menthe poivrée	M.P	100%	Algérie	Blida (Chiffa)	5	600	Absence de rose de Damas sur le marché
	Lavande	L.V					550	
	Eucalyptus	E.P					550	
	Rose de Damas	-	-	-	-	-	-	
Formulation 1		F.1	-	France	-	5	2500	

Il est à signaler que F.1, en plus de H.E elle contient la coumarine, le citral, le géraniol, le citronellol, le linalool et le limonène. Malheureusement, La coumarine, le géraniol et le citronellol ne sont pas disponibles.

Tableau II.2 : Composition de formulation 2

	Composition	Code	Pureté	Pays	Remplissage	Quantité (ml)	Prix (DA)	Remarque
H.E	Menthe poivrée	M.P	100%	Algérie	Blida (Chiffa)	5	600	Absence de Gaulthérie
	Eucalyptus	E.P				5	550	
	Pin	Pin				10	1000	
	Gaulthérie	-	-	-	-	-	-	
Formulation 2		F.2	-	Algérie		8	490	

Il a noté qu'en plus des huiles essentielles, la formulation 2 reforme le constituant menthol et camphre.

Tableau II.3 : Composition de formulation 3.

	Composition	Code	Pureté	Pays	Remplissage	Quantité (ml)	Prix (DA)	Remarque
H.E	Clou de girofle	L.g	100%	Algérie	Blida (Oued Alleug)	10	1000	Disponible
	Thym	T.h					3500	
	Camomille	A.m					3500	
Formulation 3		F.3	-	Algérie		60	550	

II.2. Extraction des huiles essentielles

Du moment que pour les deux premières formulations, nous n'avons pas pu avoir tous les constituants, nous avons considéré que la formulation 3 pour effectuer l'analyse prédictive. A cet effet, nous avons préparé des huiles essentielles à partir des plantes de clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), du thym (*Thymus vulgaris*) et de camomille (camomille romaine), par hydrodistillation, à l'aide d'un dispositif de type Clevenger (figure II.1)

Pour cela, on a d'abord pesé une quantité bien déterminée de plante séchée, que l'on a ensuite placée dans un ballon en verre de 2 L, rempli au deux tiers d'eau distillée. Une fois le montage de distillation correctement installé et fermé, on a mis en marche le chauffe-ballon, avec un réglage adapté pour garantir une extraction régulière et stable. La vapeur d'eau enrichie en huiles essentielles s'est dirigée vers le haut, à travers la colonne de distillation, avant de se condenser dans la colonne de refroidissement. Après environ trois heures, on a recueilli dans un tube à essai un liquide soit jaunâtre ou trouble et blanchâtre, formé d'une émulsion d'eau et d'huile essentielle. En le laissant reposer quelques heures, les deux phases se sont séparées naturellement. On a ensuite récupéré l'huile essentielle à l'aide d'une pipette Pasteur, puis on l'a stockée dans des flacons en verre ambré bien fermés.

Même après la séparation spontanée des phases, une partie de l'huile essentielle reste dissoute ou dispersée dans la phase aqueuse (l'hydrolat). Afin de récupérer cette fraction résiduelle, nous avons recouru à une extraction liquide-liquide, qui permet de transférer les composés hydrophobes de l'eau vers un solvant organique non miscible (Figure II.2).

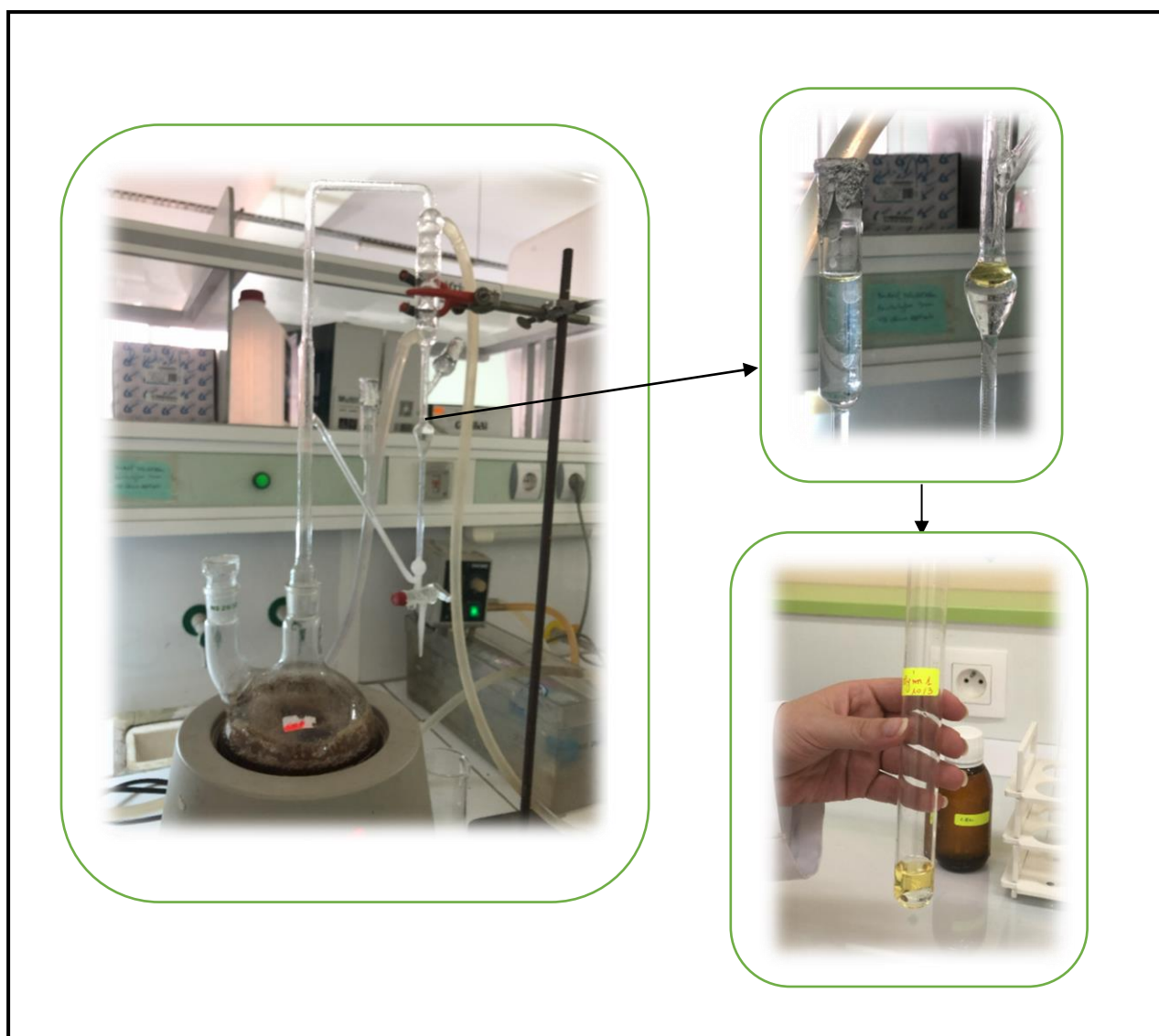


Figure II.1 : Extraction de l'huile essentielle de thym

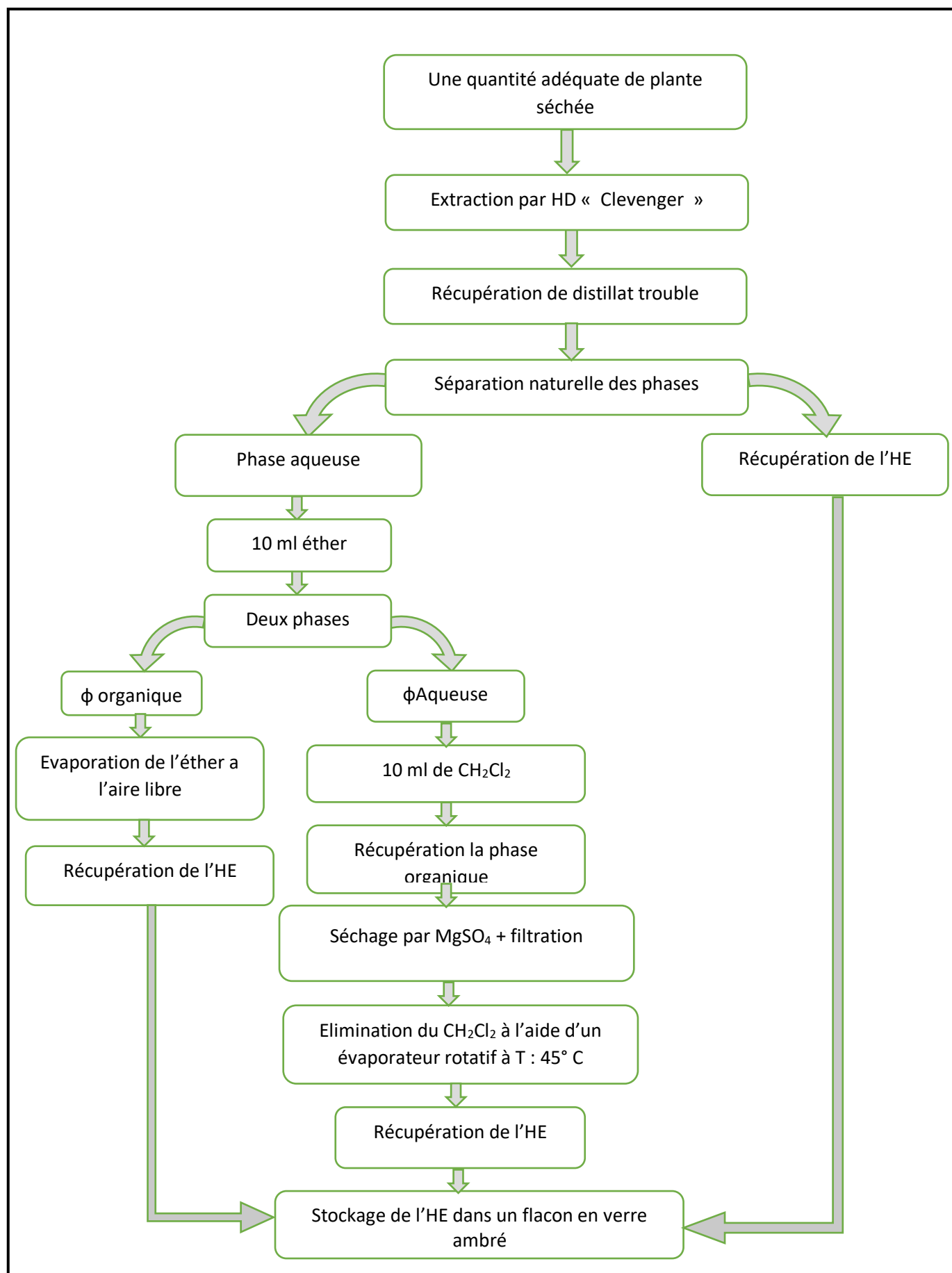


Figure II.2 : Organigramme du procédé d'extraction de l'huile essentielle

II.3. Analyse par spectroscopie ATR-IRTF

L'analyse infrarouge a été réalisée à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF), en mode ATR (Attenuated Total Reflectance), de marque Thermo Scientific, modèle Nicolet iS10 (figure II.3). Les mesures ont été effectuées dans le domaine du moyen infrarouge, couvrant l'intervalle de nombre d'ondes de 4000 à 500 cm^{-1} . L'appareil possède un détecteur DTGS et un séparateur de faisceau en KBr. Les spectres ATR-FTIR ont été acquis avec une résolution spectrale de 4 cm^{-1} , et chaque échantillon a été analysé avec un total de 10 balayages (scans). Avant chaque mesure, un fond (background) est enregistré, après un nettoyage rigoureux du cristal ATR à l'aide d'un solvant volatil (éthanol ou isopropanol) pour éliminer toute trace d'impuretés. Une fois le fond calibré, 3 μL d'échantillon sont directement déposés sur le cristal à l'aide d'une micro-seringue, puis l'analyse est lancée selon les paramètres standards. Le traitement et l'analyse des spectres sont réalisés à l'aide du logiciel OMNIC (version Windows 7) (figure II.4).

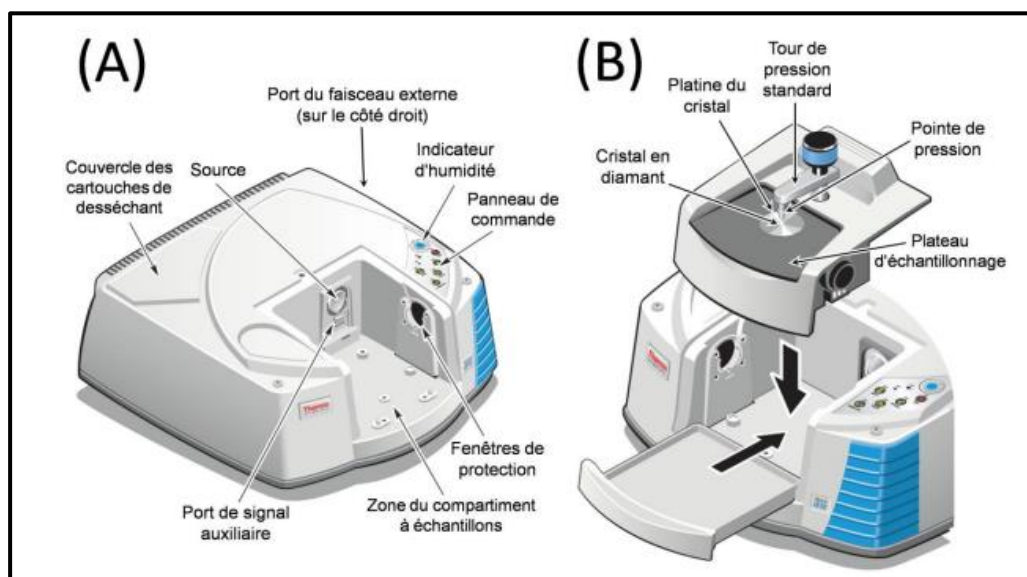


Figure II.3 : Caractéristique principale du Spectromètre Nicolet iS10 (A) et Accessoire Smart Itr (B) [107]

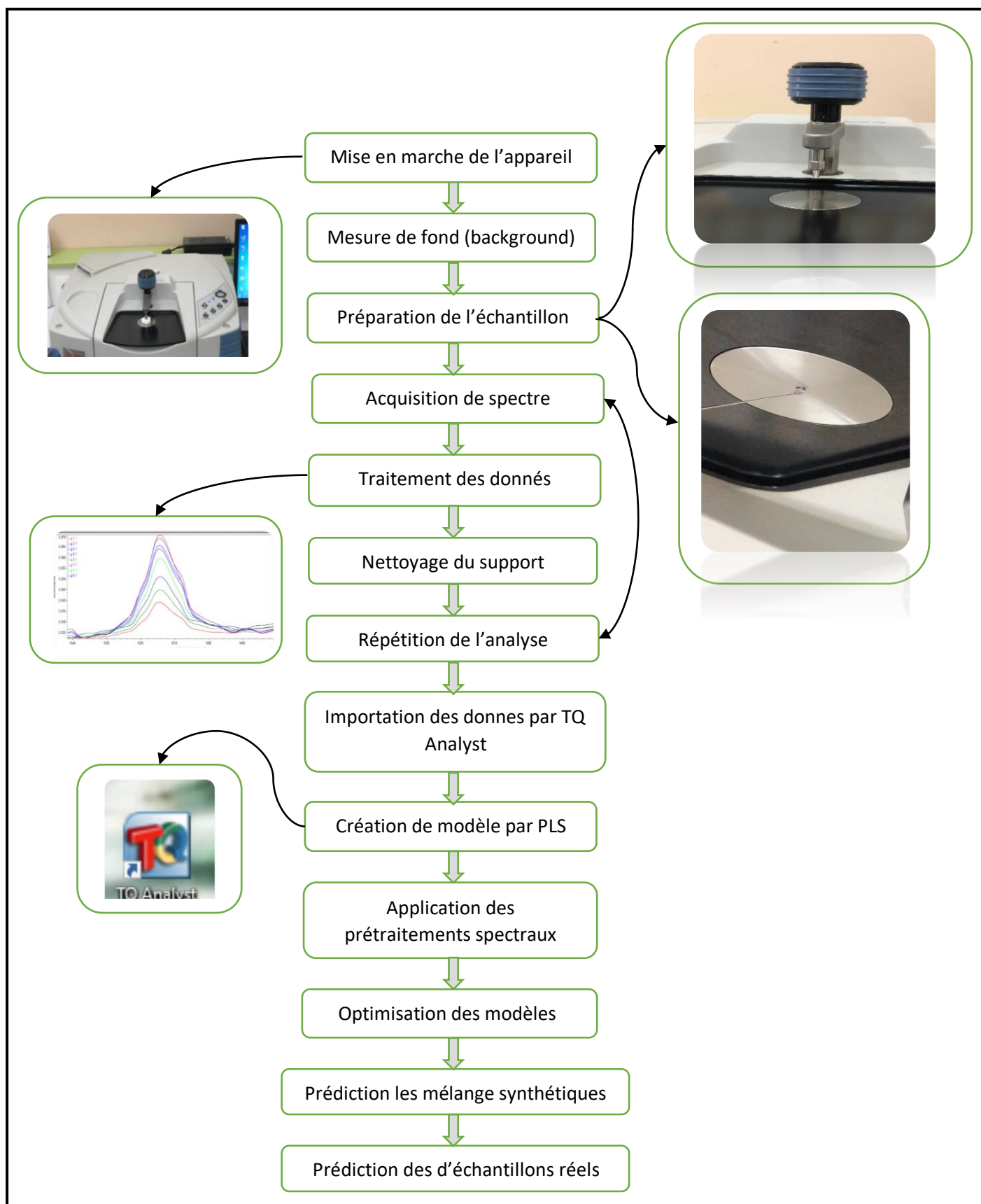


Figure II.4 : Organigramme résumant les étapes de la détermination par IRTF

II.4.Préparation des échantillons

II.4.1.Preparation de la matrice de calibration individuelle

Nous avons préparé une série d'étalonnage, pour chaque huile essentielle diluée dans l'huile végétale de tournesol en (V/V%) respectant la norme [7,8]

Donc nous avons considéré les gammes des pourcentages pour l'huile de clou de girofle comprises entre 1% et 10% et pour l'huile de thym et camomille vers 3% à 10% et on complète par huile végétale jusqu'à le volume total 1ml et analysé par ATR-FTIR.

II.4.2.Préparation des mélanges de calibration multivariée

Pour établir une courbe de calibration, sept mélanges sont préparés avec des pourcentages volumiques variables d'huiles essentielles de thym, de clou de girofle et de camomille. Chaque mélange est complété avec de l'huile de tournesol afin de maintenir un volume total constant.

La somme des pourcentages volumiques des huiles essentielles est fixée à 10 %, conformément à la norme [7,8].

Tableau II.4 : Matrice des mélanges de calibration multivariée

(V/V)(%)	M1	M1	M3	M4	M5	M6	M7
H.E L.g	1	1,8	2,6	3,9	6,6	7,1	8,5
H.E T.h	4	7	6,5	5,5	2,3	2,5	1,5
H.E A.m	5	1.2	0,9	0,6	1,1	0,4	0
H.T	90	90	90	90	90	90	90

II.4.3.Préparation des mélanges de validation

Pour valider la méthode analytique mise en place, on a préparé des mélanges de validation en suivant les mêmes étapes que pour les mélanges de calibration, mais en utilisant des proportions ≤ 10 %. On ajoute des volumes déterminés d'huile essentielle de clou de girofle thym, et de camomille, différents de ceux utilisés pour la calibration. On a complété chaque flacon avec de l'huile de tournesol pour atteindre un volume total constant (1ml).

Tableau II.5 : Matrice des mélanges de validation

(V/V)(%)	M1	M2	M3	M4	M5	M6
H.E L.g	2,4	0,5	4,7	1,7	2,2	3,1
H.E T.h	4,4	6	3,4	2,1	3,0	3,3
H.E A.m	3,2	3,5	1,9	6,2	4,8	3,6
H.T	90	90	90	90	90	90

II.4.4.Préparation des mélanges synthétiques

La préparation des mélanges synthétiques vise à reproduire des combinaisons précises d'huiles essentielles selon des proportions définies, en vue d'une analyse par spectroscopie infrarouge. Elle suit les mêmes étapes que celles employées pour les mélanges de validation-calibration, à la différence des proportions considérées.

Tableau II.6 : Matrice des mélanges synthétiques.

Mélange	M1(%)	M1(%)	M3(%)	M4(%)	M5(%)
H.E L.g	7,9	2,7	1, 4	3,3	1,3
H.E T.h	1,3	5,7	2,8	3,1	4,2
H.E A.m	0,8	1,6	5,8	3,6	4,5
H.T	90	90	90	90	90

II.5. Résultats et discussions

II.5.1. Rendement d'extraction

Pour calculer le rendement d'extraction des huiles essentielles à partir des plantes achetées, on doit déterminer d'abord le taux d'humidité.

Le taux d'humidité est donné par la formule (1).

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = \frac{m_{\text{initial}} - m_{\text{final}}}{m_{\text{initial}}} \times 100 \quad (1)$$

m_i : La masse initiale de la plante

m_f : La masse finale de la plante

Le rendement d'extraction d'HE est calculé par la formule (2). $R \% = \frac{m_1}{m_0} \times 100 \quad (2)$

m_1 : la masse en gramme d'huile essentielle

m_0 : la masse en gramme de la plante séchée

Tableau II.7 : Rendement d'extraction des huiles essentielles obtenues par HD

Plante	Taux d'humidité (%)	Rendement (%)		Réf.
		Valeur exp	Valeur Th	
Clou de girofle	13,12	6.97	15 à 20	[27]
Thym	23,78	1.74	1.0 à 3.0	[108]
Camomille	1,43	0,03	0.40 à 1.75	[28]

D'après le tableau II.7, la camomille présente un taux d'humidité de 1.43% nettement inférieure à ceux de clou de girofle (13.12%) et thym (23.78 %) cette différence peut être expliquée par plusieurs paramètres, tels que la méthode et la durée de stockage, le temps de stockage ou encore les conditions environnementales avant l'analyse.

Le taux d'humidité faible de camomille indique un séchage particulièrement efficace, ou bien des conditions de conservation plus strictes. Les rendements d'extraction des huiles essentielles obtenus à partir du clou de girofle, du thym et de la camomille montrent des variations significatives par rapport aux valeurs théoriques attendues. Le clou de girofle et le thym ont fourni des rendements de 6,97 % et 1,75 % respectivement, sensiblement inférieurs aux plages théoriques de 15 à 20 % pour le clou de girofle et de 1 à 3 % pour le thym, ce qui pourrait résulter d'une efficacité réduite du procédé d'extraction ou d'une faible teneur initiale en composés volatils. En revanche, la camomille a généré un rendement très faible, de l'ordre de 0.03% largement inférieur à la plage théorique (0.4 à 1.75), ce qui suggère soit une faible concentration en huile essentielle dans la plante utilisée, soit des conditions de récolte, d'extraction et de stockage peu adaptées.

II.5.2. Comparaison entre les spectres des huiles essentielles

Nous avons effectué une étude qualitative de toutes les huiles essentielles mentionnées dans les tableaux II.1, II.2, II.3.

II.5.2.1. Comparaison entre les spectres des huiles essentielles pures commerciales et préparées au laboratoire

La Figure II.5 représente les spectres ATR-IRTF d'huile essentielle de clou de girofle(a), de thym (b) et de camomille (c) obtenues par hydrodistillation au laboratoire et celles obtenues par entraînement à la vapeur commerciales.

On peut constater que les spectres d'huiles essentielles étudiées obtenus par HD et EV sont identiques. Une différence d'intensité est observée au niveau de certaines bandes.

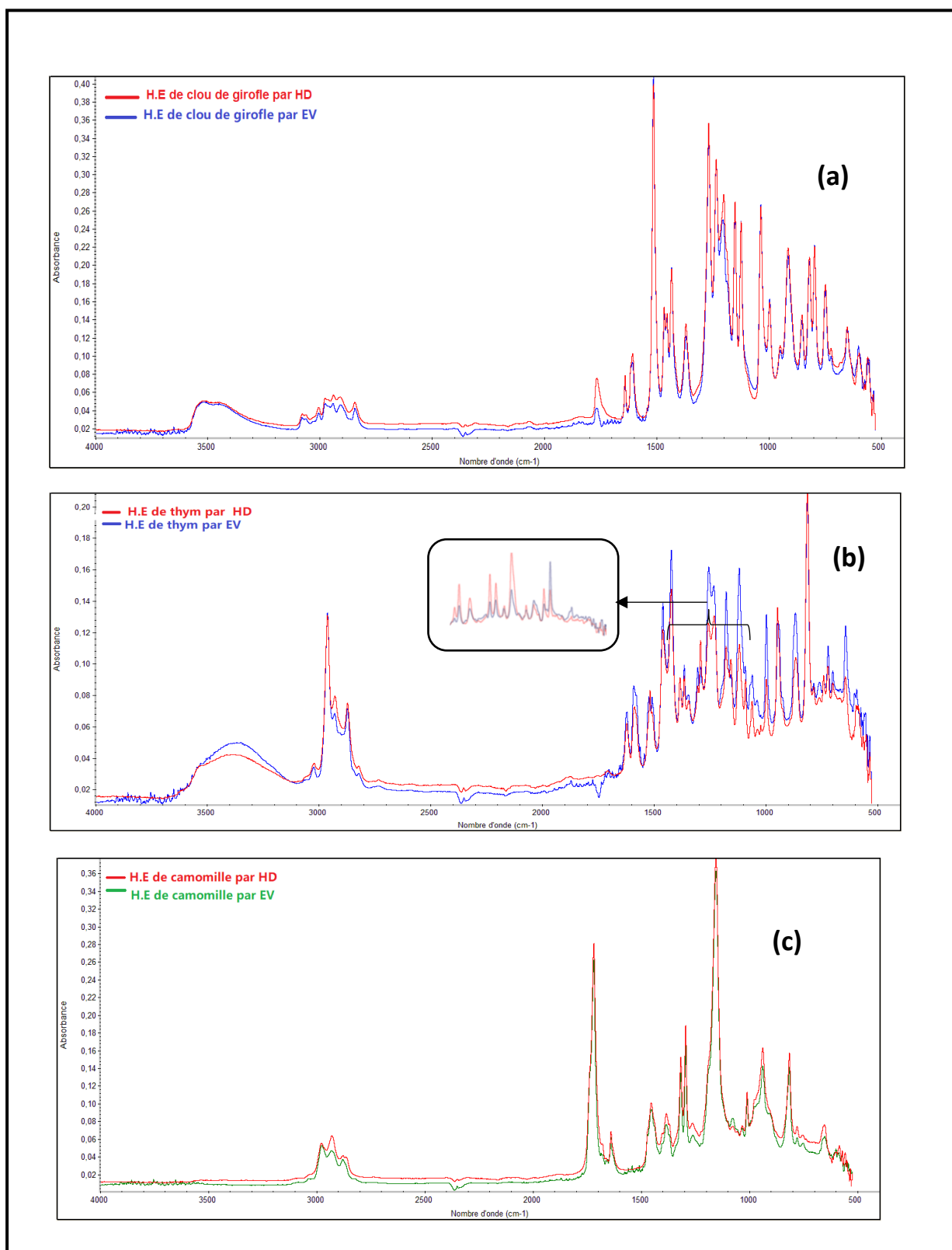


Figure II.5 : Spectres ATR-IRTF des huiles essentielles pures, (a) H.E de clou de girofle, (b) H.E de thym et (c) H.E de camomille obtenues par hydro distillation au laboratoire et par entrainement à la vapeur commerciales.

II.5.2.2. Comparaison entre les spectres de deux H.E commerciales pures obtenues par E_v et celles obtenues auprès du commerce (officine)

Il s'agit des spectres de quatre échantillons d'huiles essentielles représentées dans la figure II.6

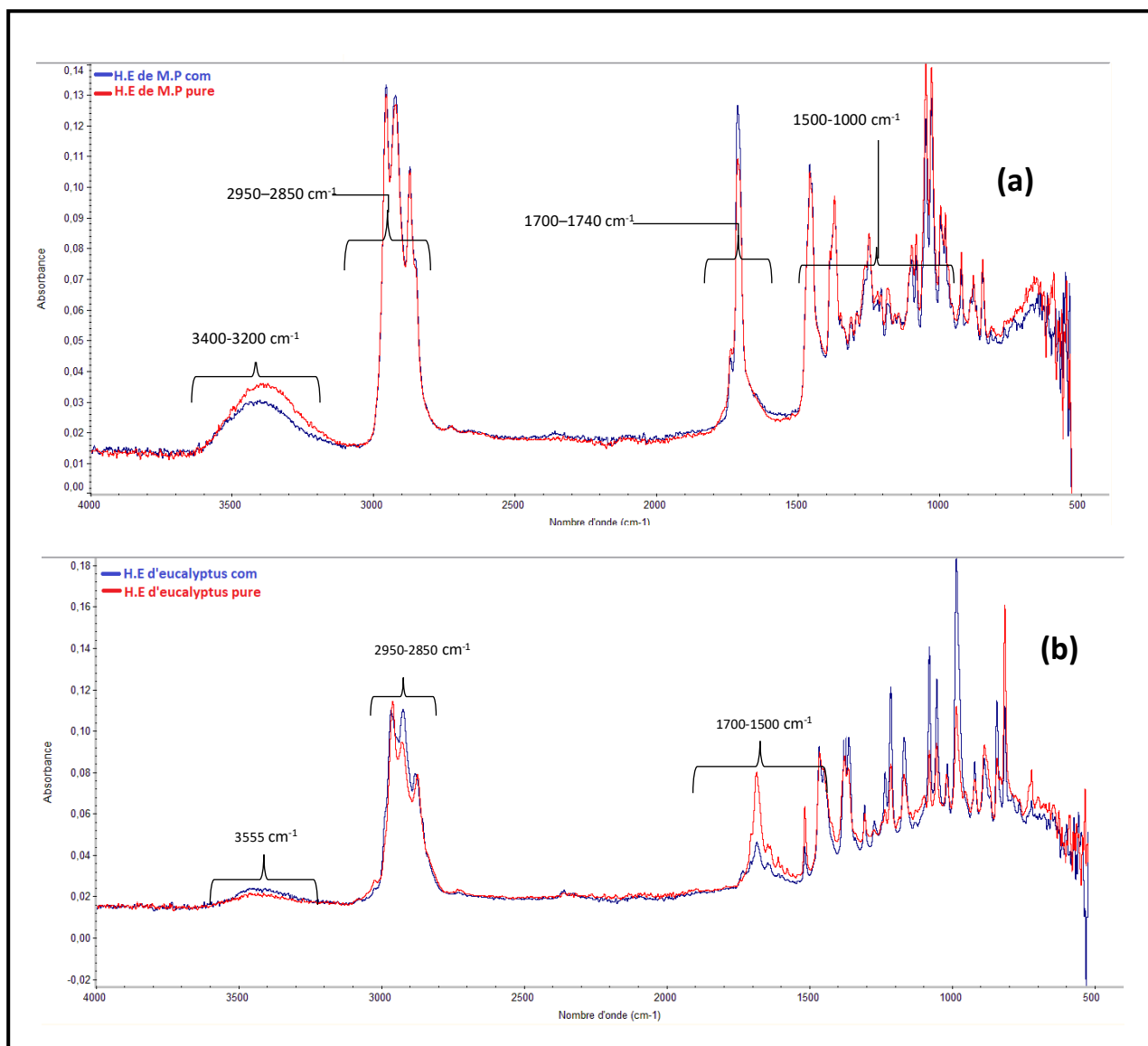


Figure II. 6 : Spectres ATR-IRTF d'huile essentielle pures, (a) H.E de M.P com et M.P pure (b) H.E d'eucalyptus com et H.E d'eucalyptus pure

On constate que l'huile essentielle de M.P pur et commerciale présente des spectres (a) IRTF très similaires, ce qui indique qu'ils partagent une composition chimique globale comparable. Toutefois, quelques différences d'intensité dans certaines bandes, notamment autour de 3300 cm^{-1} et dans la région $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$, peuvent suggérer des variations en concentration de certains composants, possiblement dues à des différences d'origine ou de procédé d'extraction.

Les deux spectres IRTF obtenus pour les huiles essentielles d'eucalyptus pur et l'autre commerciale (b) présentent une forme globale très similaire, ce qui indique que les deux échantillons partagent un même chémotype dominant. Il est probable que ce chémotype corresponde à l'eucalyptol (1,8-cinéole), composé majoritaire et caractéristique des huiles essentielles d'eucalyptus. Cependant, des différences d'intensité sont observées entre les deux spectres, notamment dans la région autour de 1700 cm^{-1} , correspondant aux vibrations de liaison C=O, ainsi que dans la zone d'empreinte digitale, incluant les bandes caractéristiques des liaisons O–H et C–H. Ces écarts peuvent s'expliquer par des variations de concentration de certains constituants présents dans les deux échantillons. De telles variations peuvent résulter de plusieurs facteurs, notamment de la nature botanique exacte de l'espèce d'eucalyptus utilisée (variété, stade de maturité des feuilles), des conditions opératoires du procédé d'extraction (durée, température, méthode), ou encore de manipulations post-extraction dans le cas de l'échantillon commercial, telles que des dilutions, l'ajout de solvants ou de conservateurs.

II.5.3. Etude des spectres des constituants de la formulation 1

Les spectres ATR-IRTF des huiles essentielles de lavande, de menthe poivrée et d'eucalyptus sont présentés dans les figures II.7, II.8 et II.9, tandis que leurs bandes caractéristiques sont répertoriées dans les tableaux II.8, II.9 et II.10.

a-Huile essentielle de menthe poivrée

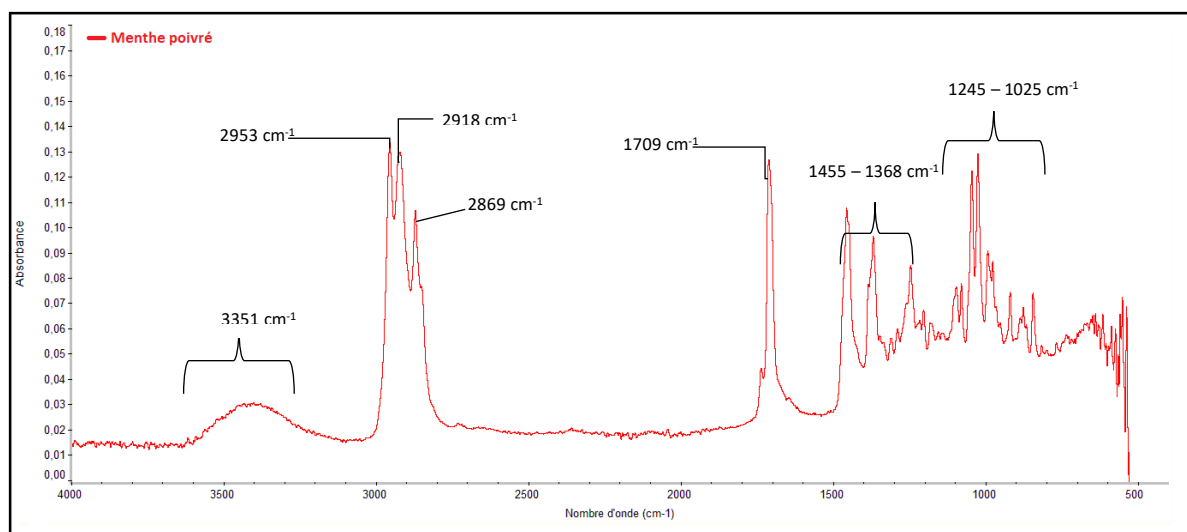


Figure II.7 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de la menthe poivrée

Tableau II.8 : Bandes caractéristiques de l'H.E de menthe poivrée pure

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de la vibration	Groupement	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de la vibration	Groupement	Réf.
3351	Élongation	O–H (large) Alcool Menthol	1455 – 1368	Vibration de déformation	C–H Groupes méthyle et méthylène	[102 ,109]
2953, 2918, 2869		C–H Groupes CH ₃ / CH ₂ (chaînes aliphatiques, terpènes)	1245 – 1025	Vibration d'élongation	C–O Alcool, ester menthol, acétate de menthyle	
1709		C=O Cétone menthone	920 – 870	Vibration de déformation hors plan	=C–H cycles limonène, pipéritone	

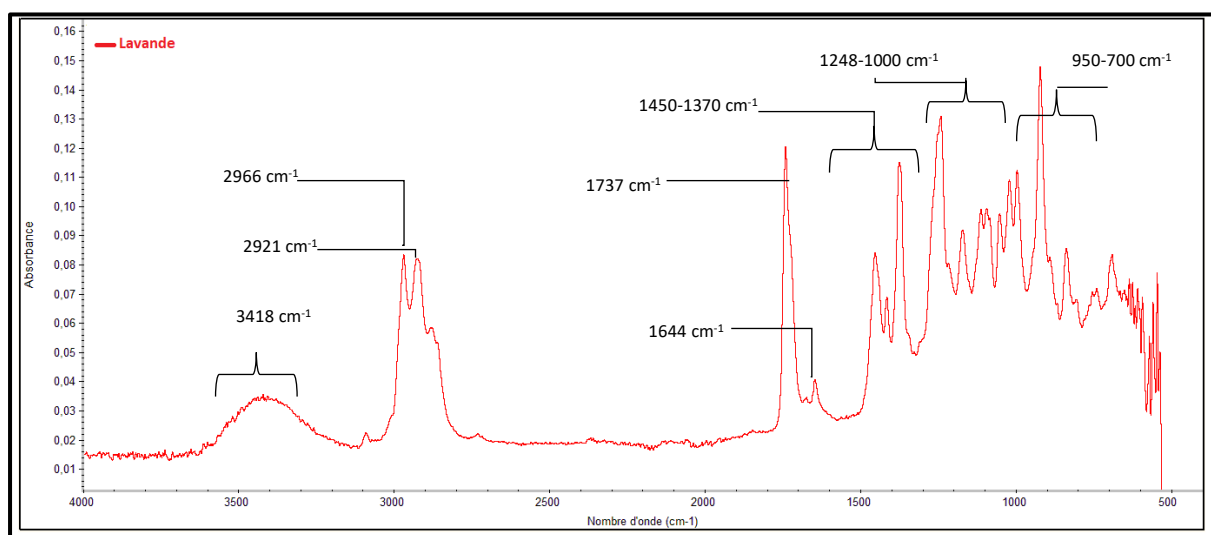
b-Spectre de l'huile essentielle de lavande**Figure II.8 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de la lavande pure**

Tableau II.9 : Bandes caractéristiques de l'H.E de lavande pure

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Réf.
3418	Élongation	O-H (alcool lié ou phénol) Géraniol, Linalol	1450-1372	Vibration de déformation	C-H de groupement CH ₂ et CH ₃	[94, 102, 109, 110]
2921,2966		C-H de groupement CH ₃ et CH ₂ Acétate de linalyle	1248-1000	Vibration d'élongation	C-O (alcool, ester, éther) Acétate de linalyle, linalol	
1737		C=O ester Acétate de linalyle	950-700	Vibration de déformation hors plan	=C-H (groupes aromatiques) Géraniol, limonène, terpinène.	
1644		C=C alcène ou cycle aromatique Acétate de linalyle, linalol				

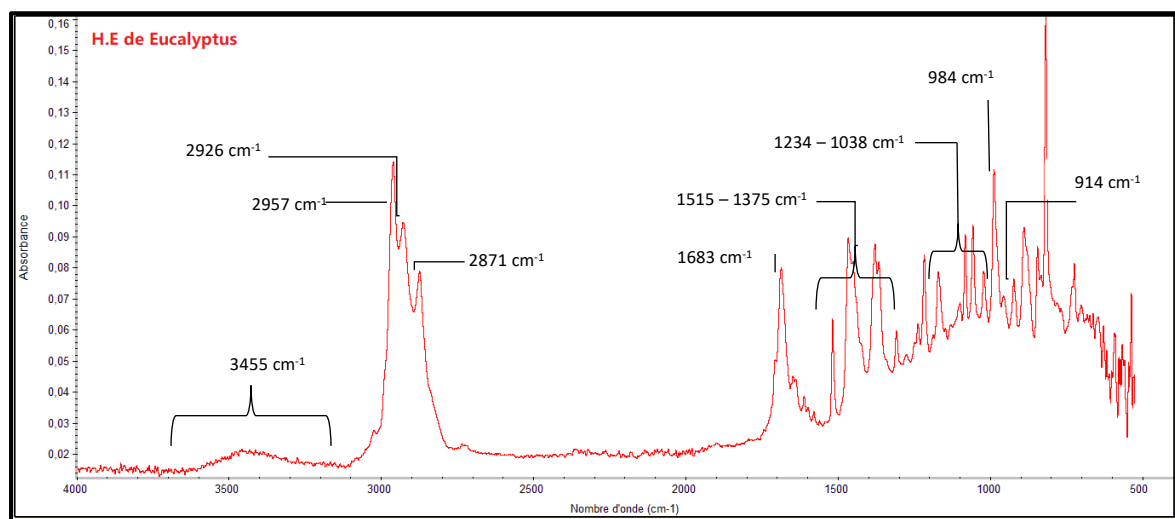
C-Huile essentielles d'eucalyptus**Figure II.9 : Spectres ATR-IRTF d'H.E d'eucalyptus pure**

Tableau II.10 : Bandes caractéristiques de l'H.E d'eucalyptus pure.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupelement	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupelement	Réf.
3455	Élongation	O-H Alcool ou phénol	1240 – 1038	Élongation	C–O–C Éthers (1,8-cinéole)	[111, 112, 113]
2957 – 2871		C–H Chaînes aliphatiques (CH ₃ , CH ₂)	984 – 914	Déformation hors plan	=C–H Alcènes	
1683		C=O ou C=C Cétone / Alcène conjugué	814 – 698	Déformation hors plan	C–H Cycles aromatiques ou chaînes linéaires	
1515 – 1375	Déformation	C-H Groupes alkyles (méthyle, méthylène)				

d-Etude du spectre de formulation 1

Afin de confirmer la composition de F. 1, les spectres ATR-IRTF de ce mélange ont été comparés aux spectres des huiles essentielles pures d'eucalyptus, de lavande et de menthe poivrée. La figure II.10 illustre ces superpositions spectrales, tandis que le tableau II.11 synthétise les bandes caractéristiques observées et leur attribution.

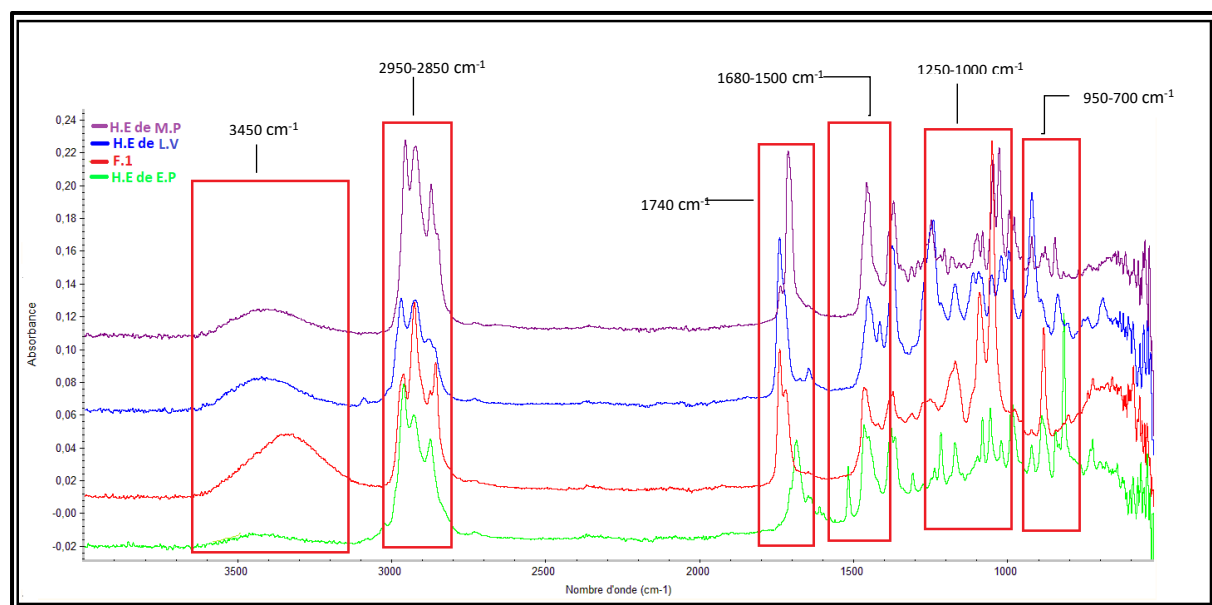


Figure II.10 : Spectres ATR-IRTF de F.1 et trois huiles essentielles pures d'eucalyptus, lavande et de menthe poivrée

La figure II.10 et le tableau II.11 représentent les bandes caractéristiques de F.1.

La comparaison avec les tableaux II.8, II.9 et II.10 confirme l'existence des HE pures dans F.1.

Tableau II.11 : Bandes caractéristiques de formulation 1

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Présence de l'huile essentielle	Interprétation
3450	Élongation	O-H Alcool	Lavande, Menthe poivrée	Présence de linalol ou menthol
2950 – 2850	Élongation	C-H CH ₃ , CH ₂ aliphatiques	Lavande, Menthe poivrée, eucalyptus	Chaînes aliphatiques communes
1740	Élongation	C=O ester / Cétone	Lavande Menthe	Présence de a acétate de linalyle et menthone
1680-1500	Déformation	C=C Alcène / aromatique	Lavande, Menthe poivrée, eucalyptus	Cycles ou structures insaturées
1250 – 1000	Élongation	C-O / C-O-C Éther, alcool	Eucalyptus (1,8-cinéole)	Forte présence d'éther Eucalyptus
950 – 700	Déformation hors plan	C-H Aromatique / Alcène	Lavande, Menthe poivrée, eucalyptus	Présence de cycles aromatiques

L'analyse des spectres ATR-IRTF montre que la F.1 présente un profil très proche de celui de l'huile essentielle de menthe poivrée. Cela signifie que cette huile est probablement majoritaire dans le mélange. En comparant les spectres, on remarque que celui de l'eucalyptus est assez différent, ce qui laisse penser qu'il est présent en plus faible quantité. Le spectre de la lavande, quant à lui, montre des similarités modérées, indiquant une présence intermédiaire.

Dans l'ensemble, le spectre de F.1 confirme qu'il s'agit d'un mélange de plusieurs huiles essentielles naturelles, principalement la menthe poivrée, suivie de la lavande, et en moindre proportion, l'eucalyptus. Les bandes caractéristiques de ces huiles sont bien visibles, mais avec des intensités plus faibles que celles des huiles pures, ce qui est logique pour un produit final dilué ou préparé pour un usage oral ou cutané, ou des nombres d'ondes largement déplacées à causes de l'effet de matrice.

e-Comparaison des spectres des ingrédients de la formulation 1

Afin d'identifier les composants présents dans F. 1, une comparaison des spectres ATR-IRTF a été réalisée avec ceux de composés tels que le limonène, le linalol et le citral. La figure II.11 illustre cette comparaison en mettant en évidence les similitudes spectrales entre F.1et ces composés, permettant ainsi de confirmer leur présence dans la formulation.

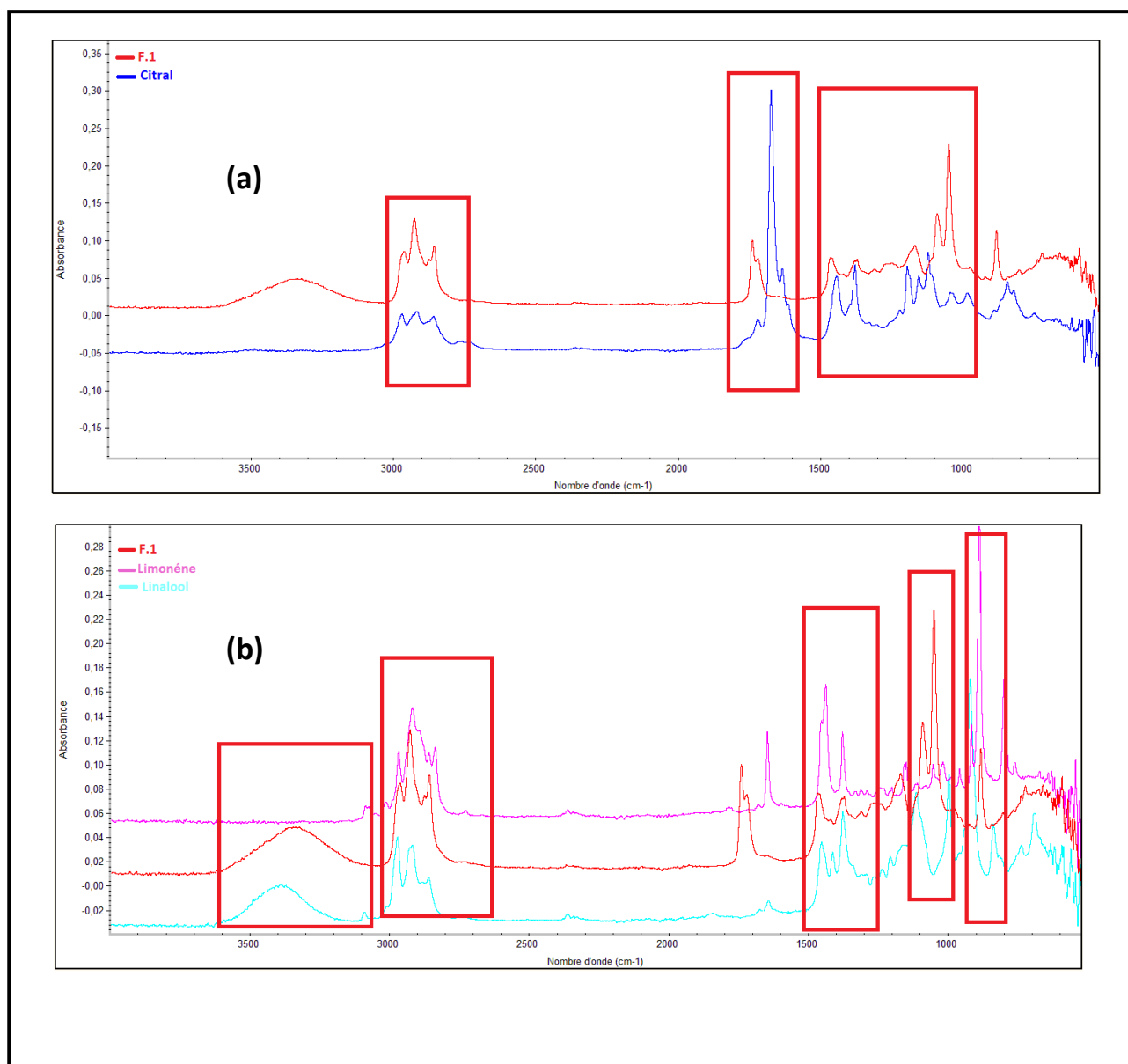


Figure II.11 : Spectres ATR-IRTF de F. 1 :(a) F.1, limonène et linalol (b) F.1 et citral

Le spectre IRTF de F.1 met en évidence la présence de linalool et de limonène. Une large bande observée autour de 3300 cm^{-1} révèle la présence d'un groupe hydroxyle (O-H), caractéristique des alcools comme le linalool. Cette interprétation est renforcée par des bandes situées entre 1000 et 1150 cm^{-1} , correspondant aux vibrations des liaisons C-O. Par ailleurs, la présence de pics dans la zone des $3000\text{--}3100\text{ cm}^{-1}$, ainsi que vers 880 et 990 cm^{-1} , indique la présence de doubles liaisons C=C, typiques des composés alcéniques comme le limonène. Ces éléments confirment que le linalool et le limonène sont des constituants de la F.1.

D'autre part, le spectre IRTF de F.1 présente également de fortes similarités avec celui du citral. Une bande marquée autour de 1670 cm^{-1} correspond à la vibration d'élongation $\text{C}=\text{O}$ d'un aldéhyde conjugué. On note aussi des bandes plus discrètes entre 2700 et 2800 cm^{-1} , caractéristiques des liaisons $\text{C}-\text{H}$ des groupements aldéhydes. De plus, le profil global de la région des empreintes digitales ($1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$) est similaire à celui du citral. Ces observations confirment sa présence dans F.1.

II.5.4. Etude des spectres des constituants de la formulation 2

F.2 contient des huiles essentielles d'eucalyptus, de menthe poivrée et de pin. Il faut noter que les huiles d'eucalyptus et de menthe poivrée sont communes aux deux formulations 1 et 2 (voir figures II.8, II.9).

La figure II.12 représente le spectre ATR-IRTF de l'huile essentielle de pin, tandis que le tableau II.12 en présente les bandes caractéristiques.

a-Huile essentielle de pin

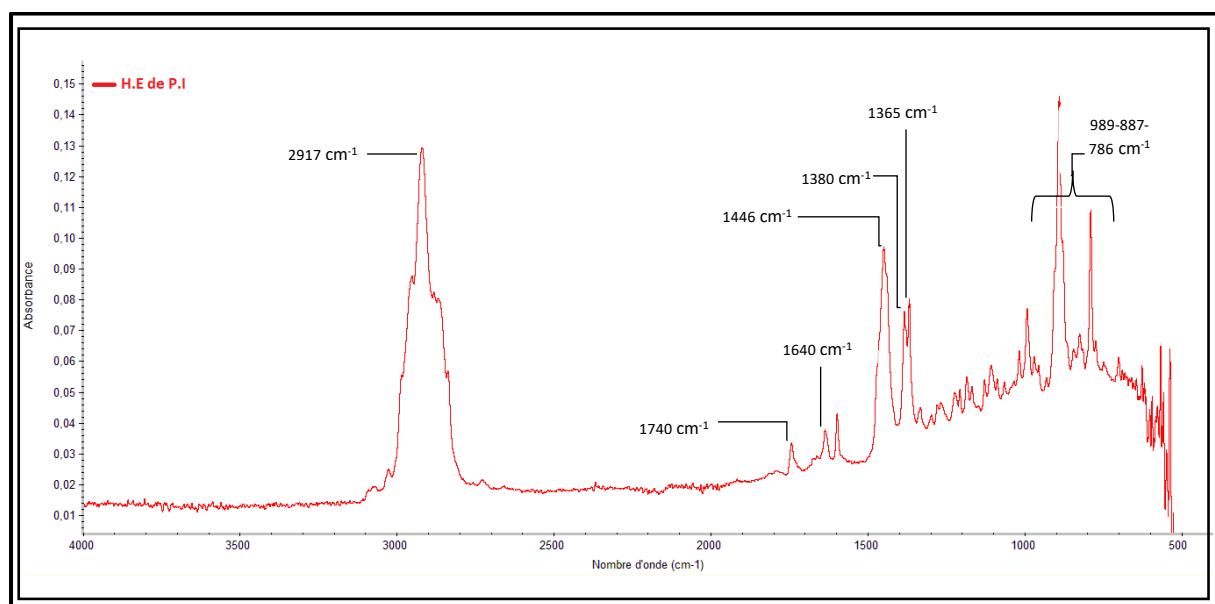


Figure II.12 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de pin pure

Tableau II.12 : Bandes caractéristiques d'H.E de pin pure.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Réf
2917	Élongation	C-H CH ₃ α-pinène	1380	Déformation	CH ₃ α-pinène	[114]
1740		C=O cétone	1215, 1080, 1028	Élongation	OH (alcool).	
1640		C=C caryophyllene	786, 887,989	Déformation hors plans	=C-H (alcènes) monoterpènes bicycliques (pinènes).	
1446	Déformation.	CH ₂ α-pinène caryophyllene				

b-Etude du spectre formulation 2 :

Afin de vérifier la présence effective des trois huiles essentielles dans F.1, le spectre ATR-IRTF de cette dernière a été comparé à ceux des trois huiles essentielles pures citées. La figure II.13 et le tableau II.13 représente les bandes caractéristiques observées dans F.1 et leur attribution, permettant ainsi de confirmer la présence de chaque huile dans la formulation.

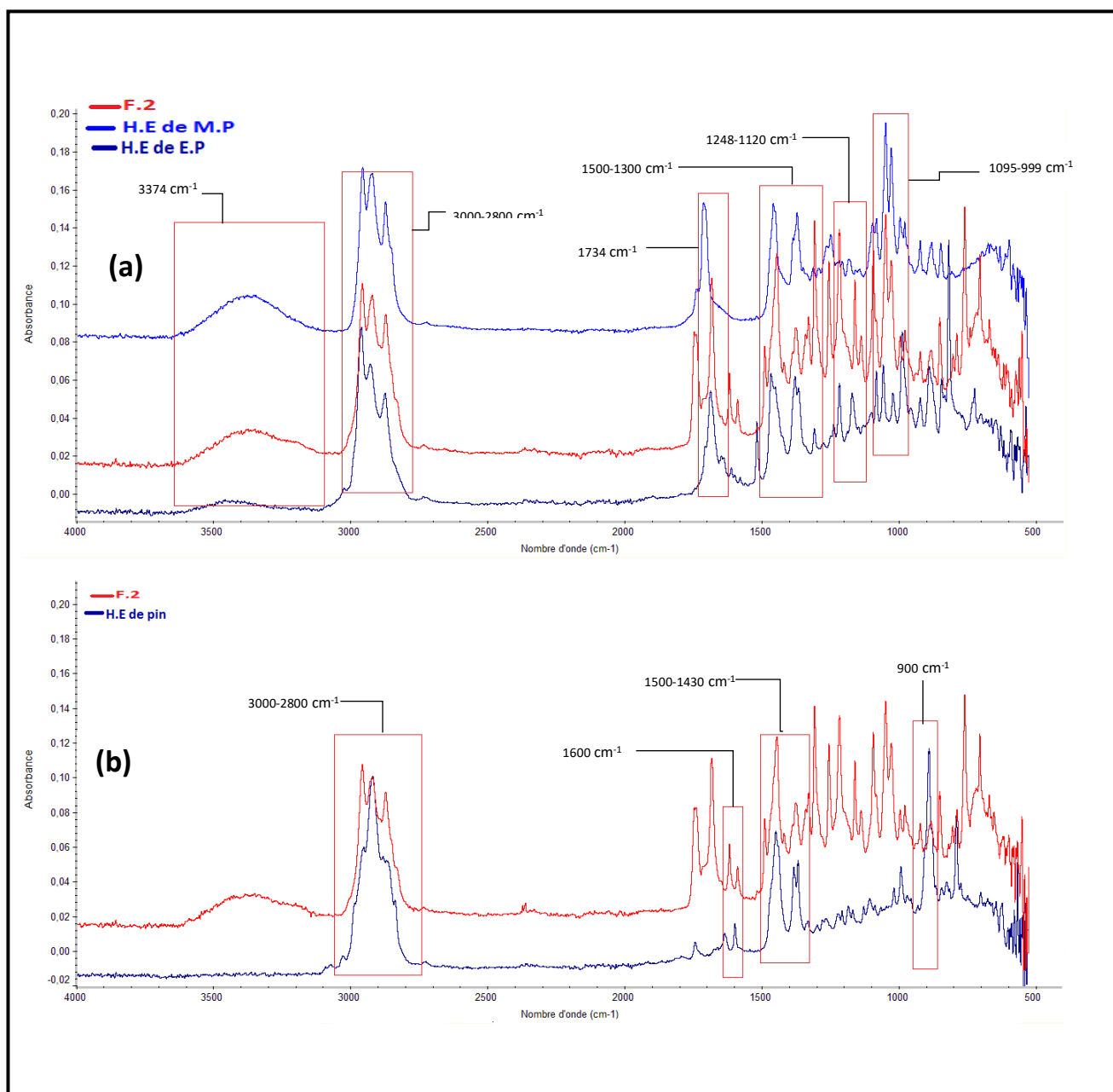


Figure II.13 : Spectres ATR-IRTF de F.2 et les trois huiles essentielles pures de pin, menthe poivrée, d'eucalyptus, (a) F.1, H.E de menthe poivrée et H.E d'eucalyptus, (b) F.1 et H.E de pin

D'après la figure II.13 montre les spectres de F.2 et des huiles essentielles qu'elle contient. Les tableaux II.10, II.11 et II.12 représentent les bandes caractéristiques de F.1 et la présence des huiles essentielles.

Tableau II.13 : Bandes caractéristiques de F. 1.

Nombre d'onde cm-1	Nature de vibration	Groupe ment fonctionnel	Présence de l'huile essentielle	L'interprétation.
3371	Élongation	O-H alcool	Menthe poivrée et Eucalyptus	Présence de menthol et eucalyptol
3000-2800	Élongation	C-H (CH ₂ -CH ₃)	Menthe poivrée, eucalyptus et pin	Chaîne aliphatique communes.
1734	Élongation.	C=O (cétone, ester)	Menthe poivrée	Présence de menthone
1600-1500	Élongation	C=C aromatique	Menthe poivrée, eucalyptus et pin	Présence de α - pinène, eucalyptol et limonène
1300-1100	Élongation	C-O, C-C (cétone, ester)	Menthe poivrée, eucalyptus et pin	Présence de menthol, Eucalyptol
1050-950	Élongation	C-O (ester, éther)	Menthe poivrée, eucalyptus et pin	Présence de menthol, Eucalyptol
900	Déformation	C-H aromatique	Pin	Présence α -pinène

L'examen approfondi des spectres infrarouges montre que F.2 présente une forte similitude spectrale avec chacune des trois huiles essentielles étudiées. Chaque zone spectrale associée à un groupe fonctionnel particulier (O-H, C-H, C=O, C-O, C=C) est présente dans le spectre de F.2, ce qui prouve la présence simultanée des huiles essentielles de menthe poivrée, d'eucalyptus et de pin dans F.2 .D'autres pics supplémentaires apparaissent dans F.2.Ce qui peuvent être attribués aux groupements des autres composés de F.2. Ces résultats valident l'intégration de ces huiles comme composants actifs dans la formulation 2.

c- Comparaison des spectres des ingrédients de la formulation 2

La figure II.14 présente la comparaison spectrale entre F.2, le camphre et le menthol, réalisée dans le but de confirmer la présence de ces deux composés dans la formulation.

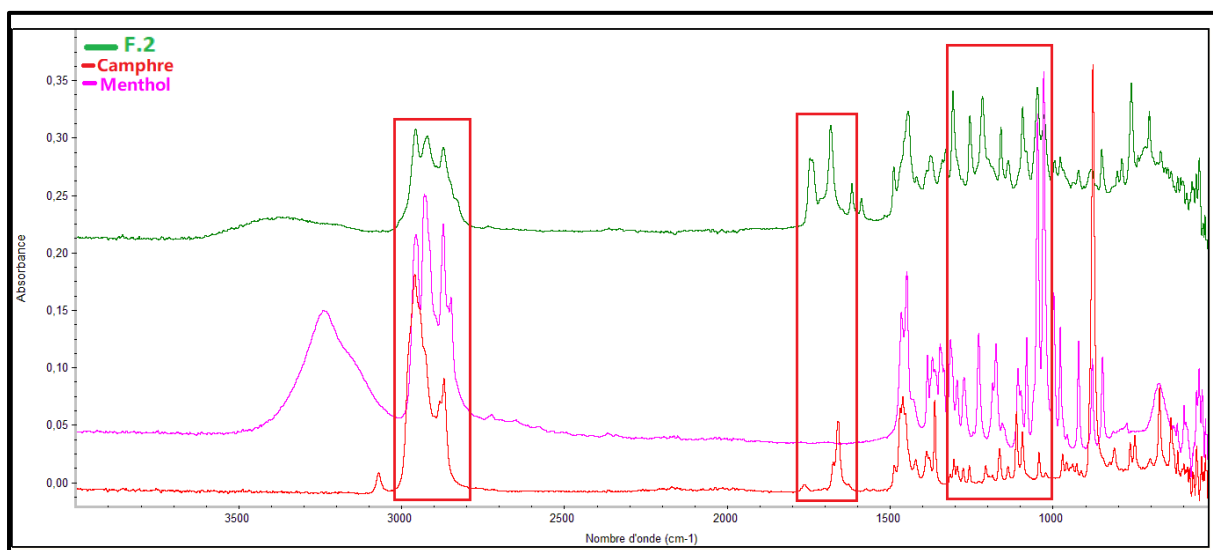


Figure II.14 : Spectre ATR-IRTF de mélange F.2, camphre et menthol

Le spectre infrarouge de F.1 présente de nombreuses similitudes avec ceux du camphre et du menthol, ce qui indique clairement la présence de ces deux composés dans sa composition.

Dans la région des $3000\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$, on observe des bandes caractéristiques des vibrations d'élongation des liaisons C–H aliphatiques, présentes dans les trois spectres. Cela montre que F.2 contient des chaînes hydrocarbonées similaires à celles du camphre et du menthol. Vers 1740 cm^{-1} , une bande intense apparaît dans les spectres du camphre et de F.2, correspondant à la vibration d'élongation du groupe carbonyle C=O, typique d'une fonction cétone. L'absence de cette bande dans le menthol mais sa présence dans F.2 confirme que F.2 contient du camphre.

Dans la région des $1050\text{--}950\text{ cm}^{-1}$, des bandes dues aux vibrations de valence du groupe hydroxyle (C–O) sont présentes à la fois dans les spectres du menthol et de F.2. Cela suggère fortement la présence de menthol, qui est un alcool secondaire. Enfin, la zone entre 1500 et 1300 cm^{-1} , riche en bandes correspondant aux déformations des groupes CH_2 et CH_3 , montre une bonne superposition entre les trois spectres, ce qui confirme encore la similarité structurale.

Donc d'après l'analyse du spectre infrarouge, F.2 contient bien à la fois du camphre et du menthol.

II.5.5. Etude des spectres des constituants de la formulation 3

Les spectres ATR-IRTF des huiles essentielles de clou de girofle, thym et de camomille sont présentés dans les figures II.15, II.16 et II.17, tandis que leurs bandes caractéristiques sont répertoriées dans les tableaux II.14, II.15 et II.16.

a-Huile essentielle de clou de girofle

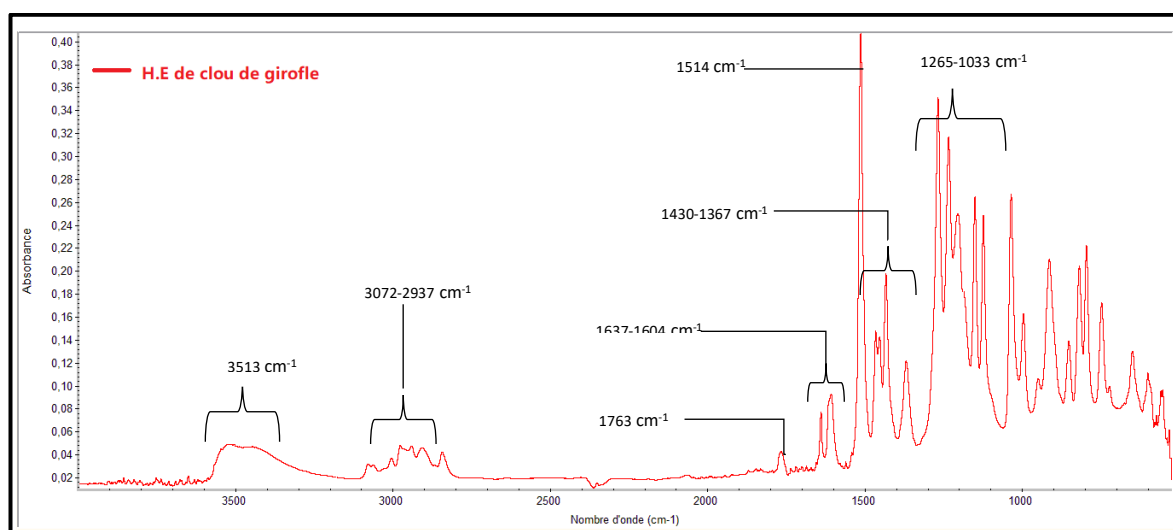


Figure II.15 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de clou de girofle pure

Tableau II.14 : Bandes caractéristiques d'H.E de clou de girofle pure.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe ment	Référence
3513	Élongation	O-H alcool (eugénol)	1514	Élongation	C=C Cycle aromatique (Eugénol et l'acétate d'eugénol)	[115,116]
3072-2937		=C-H Cycle aromatique	1430-1367	Déformation	C-H de groupement CH ₂ et CH ₃	
1763		C=O ester (l'acétate d'eugénol)	1265-1033	Élongation	C-O Groupement phénol	
1637-1605		C=C d'alcène	911-745	Déformation	C-H de CH ₂	

b-Huile essentielle de thym

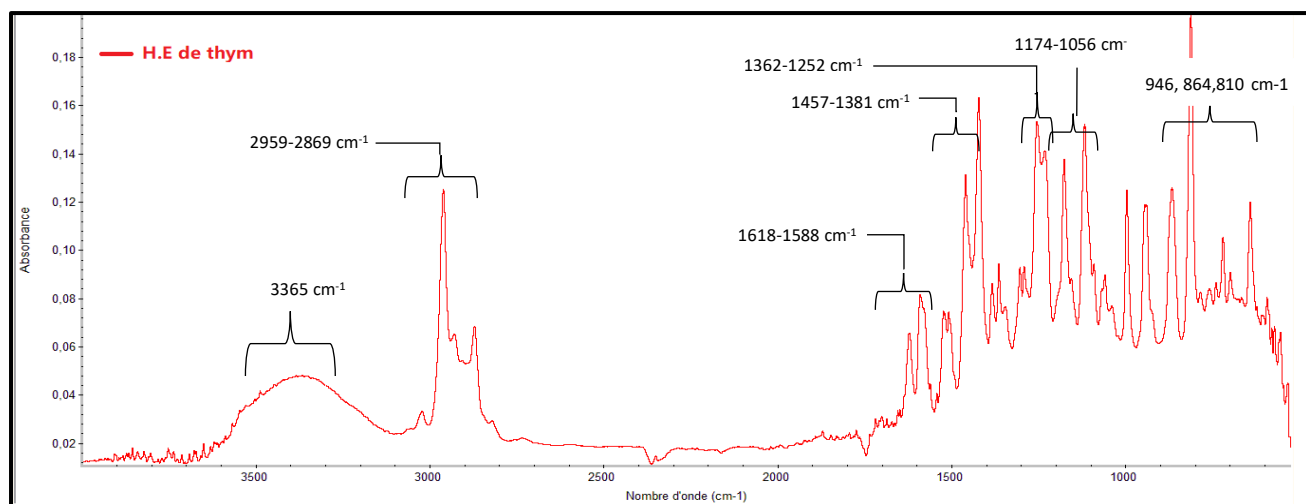


Figure II.16 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de thym pure

Tableau II.15 : Bandes caractéristiques d'H.E de thym pure.

Nombre d'onde (cm-1)	Nature de vibration	Groupements	Nombre d'onde (cm-1)	Nature de vibration	Groupements	Référence
3365	Élongation	O-H (Alcool et phénol) Thymol	1362-1252	Élongation	O-H (alcool, phénol)	[102, 117,118]
2959-2869		La liaison C-H de groupe CH ₃ présent dans les terpénoides .	1174-1056		C-OH (alcool ou phénol) thymol	
1618-1588		C=C cycle aromatique thymol	942,864et810	Déformation hors plan	C-H aromatique cycle aromatique). Thymol <i>p</i> -cymene	
1457-1381	Déformation	C-H de groupe CH ₂ /CH ₃ .				

C-Huile essentielle de Camomille :

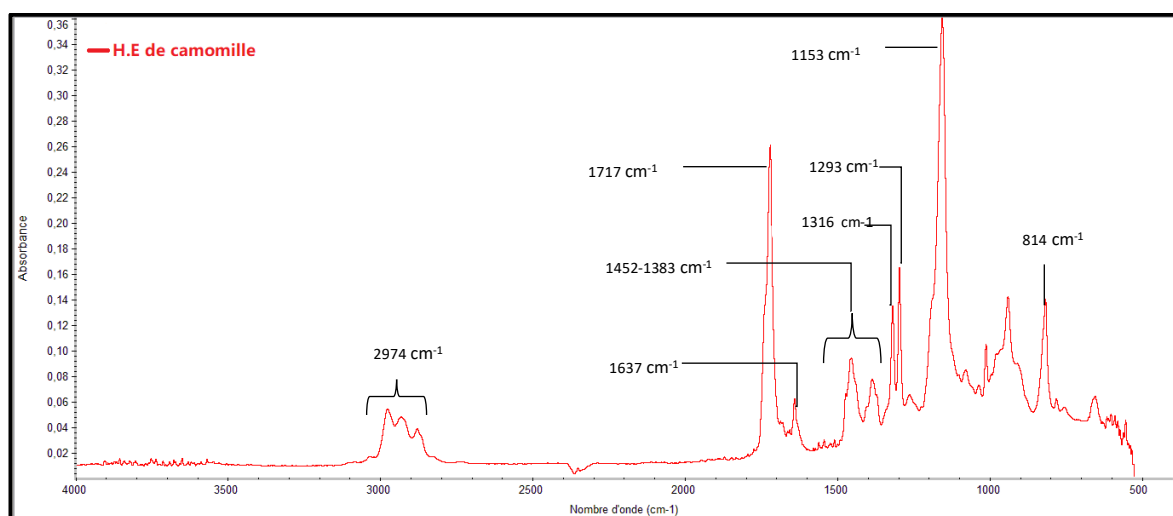


Figure II.17 : Spectres ATR-IRTF d'H.E de Camomille pure .

Tableau II.16 : Bandes caractéristiques d'H.E de Camomille pure.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe	Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Nature de vibration	Groupe	Réf
2974	Élongation	C-H (alcane) CH ₃ ou CH ₂	1316	Élongation	OH Alcool α -bisabolol	[119]
1717		C=O (cétone ou ester) matricine	1293		C-O Ester	
1637		C=C (alcène ou aromatique) chamazulène	1153		C-O-C ester	
1452-1383	Déformation.	CH ₃ ou CH ₂ α -bisabolol matricine	1090-1080		C-O (α -bisabolol)	

d-Etude des spectres de la formulation 3

Pour confirmer la présence des trois huiles essentielles dans F.3, le spectre ATR-IRTF de cette dernière a été comparé à ceux des huiles pures de clou de girofle, de thym et de camomille (figure II.18 et tableau II.17).

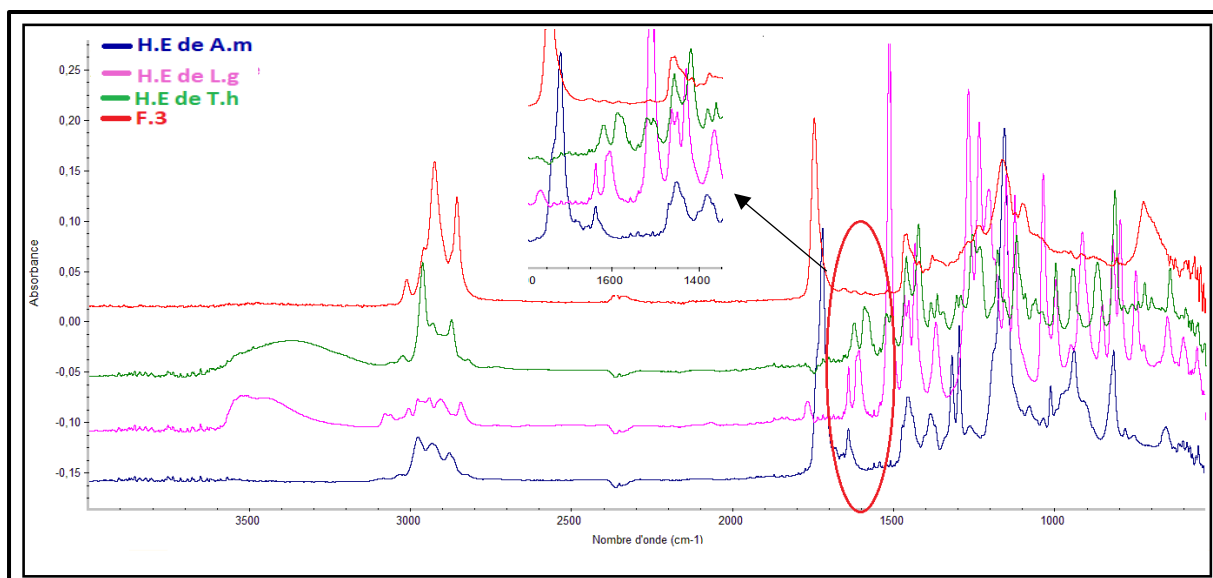


Figure II.18 : Spectres ATR-IRTF de F.3 et les trois HE pures de clou de girofle, thym et de camomille.

D'après les tableaux II.14- II.16 et la figure II.18, on a confirmé la présence des bandes caractéristiques de F.3 et la présence des huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille dans F.3.

Tableau II.17 : Bandes caractéristiques de F.3.

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Type de vibration	Groupe ment fonctionnel	Présence d'huile essentielle	Interprétation
2950 – 2850	Élongation	C–H CH ₃ , CH ₂ (alcane)	Clou de girofle, thym et camomille	Chaînes aliphatiques communes aux HE
1740	Élongation	C=O Ester / cétone	Camomille	Présence de fonctions carbonylées matricine
1605	Déformation aromatique	Cycle aromatique	Clou de girofle	Présence de composés phénoliques (eugénol)
1510	Déformation aromatique	C=C	Clou de girofle	Présence d' eugénol et l'acétate d'eugénol
1454 – 1375	Déformation	C–H CH ₃ , CH ₂	Clou de girofle, thym et camomille	Chaînes aliphatiques
1240 – 1170	Élongation	C–O Ester / alcool / éther	Camomille, clou de girofle	Présence de dicycloethers et phénol
1050 – 1020	Élongation	C–O Alcool	Thym, camomille	Présence de α-bisabolol, thymol
810 – 790	Hors plan aromatique	C-H Cycle aromatique	Clou de girofle	Présence de cycles aromatiques

La figure II.19 représente le spectre ATR-IFTR de F.3 et d'huile végétale, on a comparé le spectre de F.3 et d'huile végétale

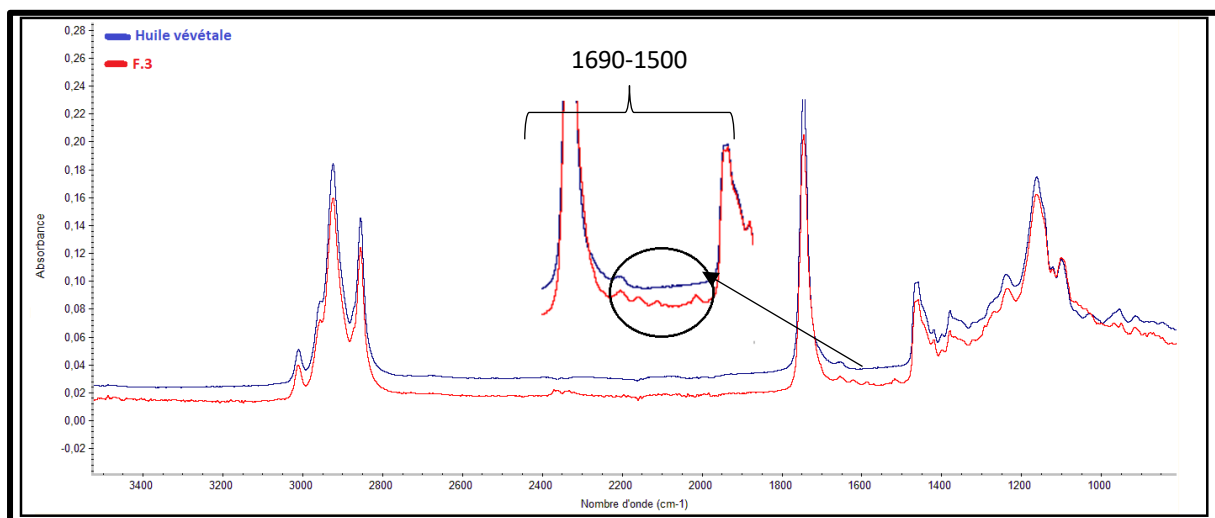


Figure II.19 : Spectres ATR-IR de F.3 et d'huile végétale

L'allure générale du spectre de F.3 est similaire à celle de l'huile végétale (figure II.20), ce qui suggère que la base de formulation de l'échantillon est une matière grasse, très probablement de l'huile de végétale. Cependant, des différences notables sont observées dans certaines régions spectrales, indiquant la présence de composants actifs supplémentaires.

En particulier, l'analyse de la région comprise entre 1690 et 1500 cm^{-1} qui révèlent la présence des bandes dans le spectre de F.3 qui sont absentes dans le spectre de l'huile végétale. D'après la figure II.18 ainsi que les tableaux II.11, II.12, II.13 et II.14, la bande à 1514 cm^{-1} est attribuée au vibration d'élongation C=C aromatique de à l'eugénol, principal constituant de l'huile essentielle de clou de girofle, tandis que la bande à 1592 cm^{-1} correspond aux vibrations C=C aromatiques du thymol, présent dans l'huile essentielle de thym.

Ces éléments confirment que F.3 contient des huiles essentielles naturelles, notamment de clou de girofle, de thym et de camomille. Toutefois, l'intensité relativement faible de ces bandes suggère que ces huiles essentielles sont présentes en quantités réduites, vraisemblablement diluées dans une proportion majoritaire d'huile de tournesol.

II.5.6.Choix d'huile végétale (solvant de dilution)

Dans le cadre de la formulation de produits à base d'huiles essentielles, il est impératif de respecter les normes de dilution afin d'assurer la sécurité d'utilisation. Les huiles essentielles étant hautement concentrées, elles doivent être diluées dans une huile végétale.

Afin de choisir cette dernière, nous avons analysé les huiles végétales d'amande douce, jojoba, olive, germe de blé et tournesol.

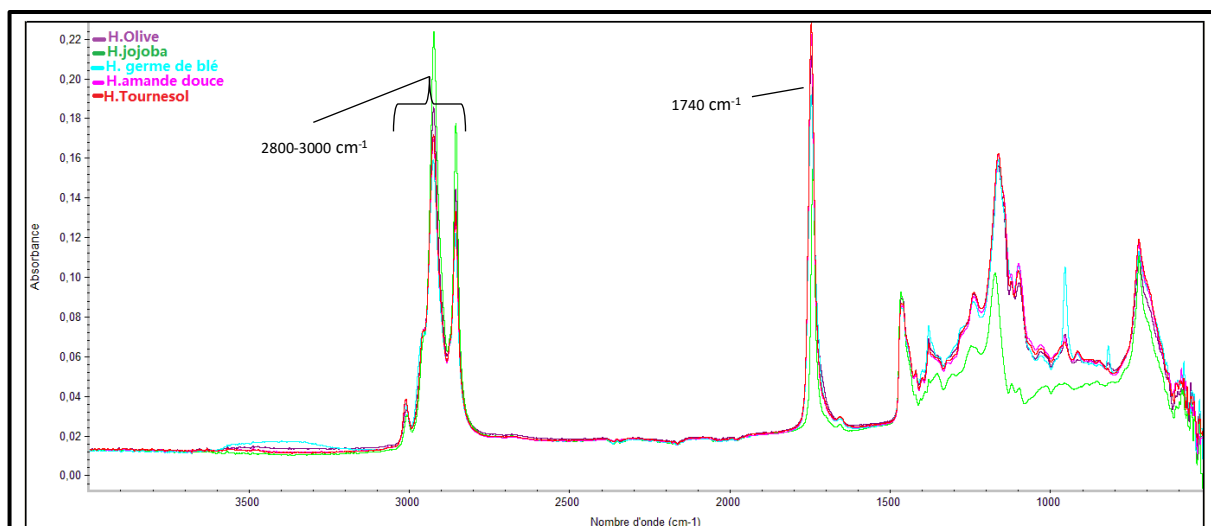


Figure II.20 : Spectres ATR-IRTF des huiles végétales : huile de tournesol, huile d’olive, huile d’amande douce, huile de germe de blé et huile jojoba

L’analyse des spectres infrarouges en mode ATR-IRTF des différentes huiles végétales (amande douce, tournesol, germe de blé, jojoba et olive) révèle une forte superposition des bandes d’absorption caractéristiques. Cette similitude s’explique par la composition chimique comparable de ces huiles, principalement constituées de triglycérides.

D’après les spectres ATR-IRTF des huiles végétales ,on observe notamment des pics d’élongation des liaisons C–H dans la région comprise entre 2800 et 3000 cm^{-1} , caractéristiques des groupements méthyle et méthylène présents dans les chaînes d’acides gras. De plus, une bande d’absorption intense autour de 1740 cm^{-1} est systématiquement présente, correspondant à la vibration d’élongation du groupement carbonyle (C=O) des esters. Cette bande constitue une signature spectrale typique des triglycérides, expliquant sa présence marquée et similaire dans l’ensemble des huiles étudiées.

Le choix d’huile végétale se fait par rapport la disponibilité et le cout, donc huile de tournesol est le bon choix. Il s’agit d’une huile disponible en comparaison à d’autres huiles.

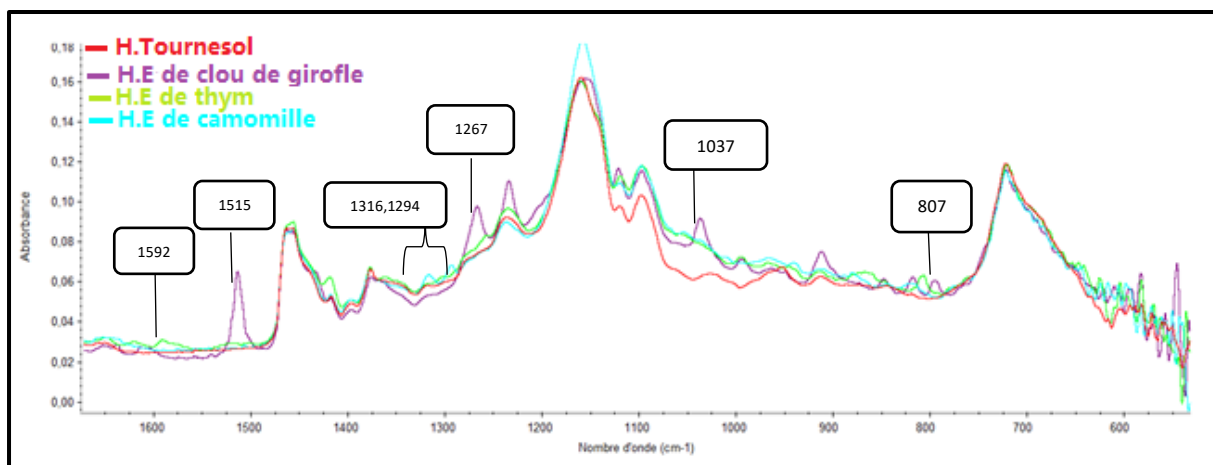


Figure II.21 : Spectres ATR-IRTF de l'H de tournesol, H.E de clou de girofle, thym et camomille

Les spectres des trois huiles essentielles et de l'huile de tournesol présentent plusieurs bandes qui se chevauchent, ce qui rend leur distinction difficile. Cependant, des bandes bien séparées ont été observées pour le clou de girofle à 1515, 1267 et 1037 cm^{-1} , tandis que celles du thym et de la camomille sont largement interférées tout au long des spectres. Pour limiter ces interférences, nous avons choisi de nous baser sur les bandes les moins affectées à savoir 1592 et 807 cm^{-1} pour le thym, 1316 et 1294 cm^{-1} pour la camomille.

II.5.7. Calibration individuelle

II.5.7.1. Modèles monovariés

Dans le cadre de notre travail, nous avons procédé à l'optimisation de tous les paramètres influençant la qualité de la calibration monovariée. Cette optimisation a été appliquée à l'analyse de trois huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille, en améliorant à la fois la précision et la fiabilité des résultats obtenus (tableaux II.18, II.19 et II.20). Les modèles de calibration en gras sont les modèles choisis, le choix est basé sur l'erreur RMSEC.

A) Clou de girofle

Tableau II.18 : Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de clou de girofle.

Modèle	Les régions (cm ⁻¹)	Droite de calibration	RMSEC (V/V) %	R ²	RSD (%)	LD (V/V) %	LQ (V/V) %
1	1037 (1045-1024)	Y= (0.00193) C+ (0.00001)	0.178	0.9982	3.06	0.45	1.50
2	1267 (1282-1260)	Y= (0.00243) C+ (0.00002)	0.117	0.9992	2.65	0.32	1.07
3	1514 (1536-1492)	Y= (0.00602) C+ (0.00004)	0.102	0.9994	5.24	0.15	0.51

N.B : RMSEC : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration, R² : Coefficient d corrélation, RSD : écart-type relatif, LD : Limite de détection, LQ : Limite de quantification.

Le Tableau II.18 compare trois modèles de calibration pour le clou de girofle. Le modèle 3 se distingue par ses excellentes performances analytiques avec un R^2 parfait (0.9994), une faible erreur (RMSEC = 0.102). Il présente également la meilleure sensibilité de quantification (LQ = 0.51). Bien que son écart-type relatif (RSD = 5,24 %) soit légèrement supérieur à celui des autres modèles, il demeure acceptable au regard de la précision globale du modèle. Le modèle 2 offre un bon compromis, combinant un R^2 élevé (0,9992), une RMSEC modérée (0,117) et la limite de détection (LD) la plus basse (0,32 % V/V), ce qui lui confère une certaine fiabilité. En revanche, le modèle 1, bien qu'il présente un ajustement correct ($R^2 = 0,9982$), reste le moins performant en termes de précision (RSD = 3,06 %) et de sensibilité (LQ = 1,50 % V/V). En résumé, le modèle 3 est le plus adapté pour l'analyse du clou de girofle.

B) Thym

Tableau II.19 : Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de thym

Modèle	Les régions cm-1	Droite de calibration	RMSE C % (V/V)	R^2	RSD (%)	LD% (V/V)	LQ % (V/V)
1	1592 (1599-1565)	$Y = (0.00043) C + (0.00002)$	0.176	0.9976	2.97	1.67	5.58
2	807 (825-793)	$Y = (0.00128) C + (0.00003)$	0.311	0.9974	1.07	0.68	2.27

N.B : RMSEC : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration, R^2 : Coefficient d corrélation, RSD : écart-type relatif, LD : Limite de détection, LQ : Limite de quantification.

Le tableau II.19 compare deux modèles utilisés pour analyser l'huile essentielle de thym à partir de deux régions spectrales différentes. Le modèle 1 donne de très bons résultats, avec une excellente corrélation ($R^2 = 0,9976$), une faible erreur (RMSEC = 0,176) et une bonne sensibilité (LD = 1,67). Son seul point faible est un RSD relativement élevé (2,97 %), ce qui indique une certaine variabilité dans les mesures. Le modèle 2, quant à lui, présente une corrélation légèrement inférieure ($R^2 = 0,9974$) et une erreur plus importante (RMSEC = 0,311).

Cependant, il se distingue par une meilleure régularité (RSD = 1,07 %) et une sensibilité encore meilleure (LD = 0,68). En résumé, bien que le modèle 2 présentent une meilleure reproductibilité, le modèle 1 demeure le plus performant dans l'analyse de l'huile essentielle de thym, en raison de sa précision globale plus élevée.

c) Camomille

Tableau II.20 : Paramètres de qualité de calibration des différents modèles proposés pour l'huile essentielle de Camomille.

Modèle	Les régions	Droite de calibration	RMSEC % (V/V)	R ²	RSD (%)	LD % (V/V)	LQ % (V/V)
1	1294 (1306-1288)	Y= (0.00078) C+ (0.00001)	0.250	0.9944	1.40	0.92	3.08
2	1316 (1332-1307)	Y= (0.00123) C+ (0.00001)	0.246	0.9996	1.47	0.66	2.19

N.B : RMSEC : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration, R² : Coefficient d corrélation, RSD : écart-type relatif, LD : Limite de détection, LQ : Limite de quantification.

Le tableau II.20 compare deux modèles utilisés pour analyser l'huile essentielle de camomille. Le modèle 2 est le plus précis, avec un excellent ajustement (R² = 0,9996) et une faible erreur de calibration (RMSEC = 0,246). Toutefois, il présente une variabilité légèrement plus élevée (RSD=1,47 %).

Le modèle 1 est également performant, avec une bonne précision (R² = 0,9944) et une meilleure sensibilité de détection (LD = 0,92), bien qu'un peu moins précis que le modèle 2. Donc le modèle 2 est le plus adapté pour l'analyse de l'huile essentielle de camomille, en raison de sa très haute précision globale, malgré une variabilité légèrement plus importante.

En analysant les spectres infrarouges des trois huiles essentielles, il a été constaté la présence de nombreuses bandes chevauchées, ce qui complique considérablement l'identification précise de chaque constituant à partir des seules données spectrales.

Ce chevauchement rend difficile l'attribution directe des bandes à une huile spécifique, malgré l'obtention de bons paramètres de qualité de calibration. Pour dépasser cette limitation et obtenir une évaluation plus fiable de la composition, une approche d'analyse multivariée, en particulier la méthode des moindres carrés partiels (PLS), a été mise en œuvre. Cette méthode permet de modéliser efficacement la relation entre les données spectrales et la composition chimique, en tenant compte de la contribution simultanée de plusieurs variables.

II.5.8. Calibration multivariable (PLS)

II.5.8.1. Optimisation des modèles PLS

Dans cette étude, tous les paramètres ont été optimisés, et les résultats sont présentés dans les tableaux II.21, II.22 et II.23, correspondant à chaque modèle étudié. Chaque tableau regroupe les données relatives aux trois huiles essentielles, incluant l'erreur quadratique moyenne de calibration (RMSEC), l'erreur de prédiction (RMSEP) ainsi que le coefficient de corrélation (R^2). Il est important de souligner que le paramètre principal retenu pour évaluer la performance des modèles est l'erreur de prédiction (RMSEP), qui reflète la qualité de la prédiction. Les meilleurs modèles sont mentionnés en gras.

Tableau 21 : Résumé des paramètres de modèle PLS I pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m

Modèle	H.E	Région	Traitement	Mesure spectrale (cm ⁻¹)	Ligne de base (cm ⁻¹)	RMSEC % (V/V)	R ² cal	RMSECV % (V/V)	R ² CV	RMSEP % (V/V)	R ² pred	LV
Modèle 1	L.g	1045-1024 1282-1260 1536-1492	Pas de prétraitement	Hauteur 1037	None	0.111	0.9991	0.195	0.9974	0.208	0.9774	2
				Aire 1282-1260	1282-1260							
				Aire 1536-1492	1536-1492							
	T.h	811-802 895-855 1005-985 1599-1579	Pas de prétraitement	Aire 811-802	811-802	0.291	0.9896	0.491	0.9717	0.212	0.9608	3
				Aire 895-855	895-855							
				Aire 1005-985	1005-985							
				Hauteur 1592	1599							
	Am	1324-1288	Dérivée Première	1324-1288	1324-1288	0.154	0.9949	0.892	0.9072	0.357	0.9010	3

Note : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration (RMSEC) , validation croisée (RMSECV) et prédiction (RMSEP), coefficient de corrélation de la calibration (R² cal) coefficient de corrélation de la validation croisée (R² CV), coefficient de corrélation de la prédiction(R²pred) , variable latente (LV).

Tableau II.22 : Résumé des paramètres de modèle PLS II pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m

Modèle	H.E	Région	Traitement	Mesure spectrale (cm ⁻¹)	Ligne de base (cm ⁻¹)	RMSEC % (V/V)	R ² cal	RMSECV % (V/V)	R ² CV	RMSEP % (V/V)	R ² pred	LV
Modèle 2	L.g	1045-1024 1282-1260 1536-1492	Pas de prétraitement	Hauteur 1037	1045-1024	0.116	0.9991	0.284	0.9949	0.187	0.9839	2
				Aire 1282-1260	1282-1260							
				Aire 1536-1492	1536-1492							
	T.h	811-802 895-855 1005-985 1599-1579	Pas de prétraitement	Aire 811-802	811-802	0.292	0.9895	0.491	0.9716	0.216	0.9628	3
				Aire 895-855	895-855							
				Aire 1005-985	1005-985							
				Hauteur 1592	1599-1579							
	Am	1324-1288	Dérivée première	1324-1288	1324-1288	0.154	0.9949	0.892	0.9072	0.357	0.9010	3

Note : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration (RMSEC), validation croisée (RMSECV) et prédiction (RMSEP), coefficient de corrélation de la calibration (R² cal) coefficient de corrélation de la validation croisée (R² CV), coefficient de corrélation de la prédiction (R² pred), variable latente (LV).

Tableau II.23 : Résumé des paramètres de modèle PLS III pour la détermination des trois huiles essentielles de L.g, T.h et A.m

Modèle	H.E	Région	Traitement	Mesure spectrale (cm ⁻¹)	Ligne de base (cm ⁻¹)	RMSEC % (V/V)	R ² _{cal}	RMSECV % (V/V)	R ² _{cv}	RMSEP % (V/V)	R ² _{pred}	LV
Modèle 3	L.g	1045-1024 1282-1260 1536-1492	Pas de prétraitement	Hauteur 1037	1045	0.123	0.9989	0.314	0.9938	0.463	0.8999	3
				Aire 1282-1260	1282-1260							
				Hauteur 1514	1536-1492							
	T.h	811-802 895-855 1005-985 1599-1579	Pas de prétraitement	Aire 811-802	811-802	0.292	0.9895	0.491	0.9716	0.216	0.9628	3
				Aire 895-855	895-855							
				Aire 1005-985	1005-985							
				Hauteur 1592	1599-1579							
	Am	1324-1288	Pas de prétraitement	Aire 1324-1288	1324-1288	0.126	0.9966	0.673	0.9562	0.331	0.9521	4

Note : Erreur de moyenne carrée de racine de calibration (RMSEC), validation croisée (RMSECV) et prédiction (RMSEP), coefficient de corrélation de la calibration (R²_{cal}) coefficient de corrélation de la validation croisée (R²_{CV}), coefficient de corrélation de la prédiction (R²_{pred}), variable latente (LV).

Parmi les trois modèles évalués, le modèle PLS II présente globalement les performances les plus fiables et les plus robustes. Pour L.g, les coefficients de détermination très élevés ($R^2_{cal} = 0.9991$, $R^2_{CV} = 0.9949$, $R^2_{pred} = 0.9839$) combinés à de faibles erreurs ($RMSEC = 0.116$, $RMSECV = 0.284$, $RMSEP = 0.187$) traduisent une excellente précision, stabilité et capacité de généralisation du modèle. Les résultats pour T.h ($R^2_{cal} = 0.9895$, $R^2_{pred} = 0.9628$, $RMSEP = 0.216$) confirment également une très bonne justesse prédictive. Concernant A.m, bien que les performances soient acceptables ($R^2_{pred} = 0.9010$, $RMSEP = 0.357$), elles sont légèrement inférieures à celles observées pour les deux autres huiles essentielles.

Modèle PLS I, bien qu'acceptable pour L.g ($R^2_{pred} = 0.9774$, $RMSEP = 0.208$) et T.h ($R^2_{pred} = 0.9608$, $RMSEP = 0.212$), montre des valeurs de $RMSEP$ beaucoup plus élevées pour A.m (0.357), et un R^2_{pred} très bas (0.9010), ce qui traduit une faible performance du modèle. Le modèle PLSIII demeure moins performant que le modèle PLS II, pour L.g ($R^2_{pred} = 0.8999$, $RMSEP = 0.463$), pour T.h ($R^2_{pred} = 0.9628$, $RMSEP = 0.216$), et pour A.m ($R^2_{pred} = 0.9521$, $RMSEP = 0.331$), suggérant une précision inférieure et une moindre fidélité du modèle. Ainsi, le modèle PLS II se révèle être le plus performant en termes de corrélation, exactitude et reproductibilité, ce qui en fait le modèle le plus adapté pour la quantification des huiles essentielles étudiées.

II.5.8.2. Analyse des mélanges synthétiques de la calibration multivariable

À partir du modèle optimisé PLS II, plusieurs mélanges synthétiques composés des huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille ont été analysés. L'objectif principal était de valider la performance prédictive du modèle, en comparant les concentrations théoriques connues des constituants avec celles prédites par le modèle PLS II. Cette comparaison a permis d'évaluer à la fois la précision du modèle et sa fiabilité, notamment à travers le calcul des erreurs relatives entre les valeurs attendues et les valeurs estimées. Ces résultats constituent un indicateur essentiel pour juger de la robustesse du modèle multivarié dans le cadre de l'analyse quantitative.

Tableau II.24 : Analyse mélanges synthétiques de clou de girofle, thym et camomille basé sur le modèle optimisé

Mélange	Clou de girofle			Thym			Camomille		
	V _{pr} (%)	V _{tr} (%)	E (%)	V _{pr} (%)	V _{tr} (%)	E (%)	V _{pr} (%)	V _{tr} (%)	E (%)
1	7,9	8,50	7.59	1,3	1,26	-3,08	0,8	1,13	41,25
2	2,7	3,86	42.96	5,7	5.42	-4,91	1,6	1,48	-7.50
3	1,4	1,56	11.43	2,8	2,52	-10,00	5,8	6,49	11,90
4	3,3	3,63	10.00	3,1	3,27	5,48	3,6	4,24	17,78
5	1,3	1.94	49.23	4.2	4.22	0.48	4.5	4.53	0.67

N.B V_{pr} considérant la valeur présente dans le mélange et V_{tr} considérant la valeur expérimentale

Erreur= [(valeur trouvée – valeur théorique) / valeur théorique*100]

Les résultats obtenus montrent que le modèle PLS II optimisé est efficace et fiable pour estimer les teneurs des huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille dans les formulations, Malgré quelques écarts à faibles volumes, dus en partie à des erreurs de manipulation, le modèle démontre une excellente capacité prédictive. Cela confirme que le modèle est adapté à ce type d'analyse.

II.5.8.3. Quantification des trois huiles essentielles dans les formulations

La figure II.22 présente les résultats de quantification des trois huiles essentielles clou de girofle, thym et camomille dans la formulation 3, obtenus à l'aide du logiciel TQ Analyst en appliquant le modèle PLS II optimisé.

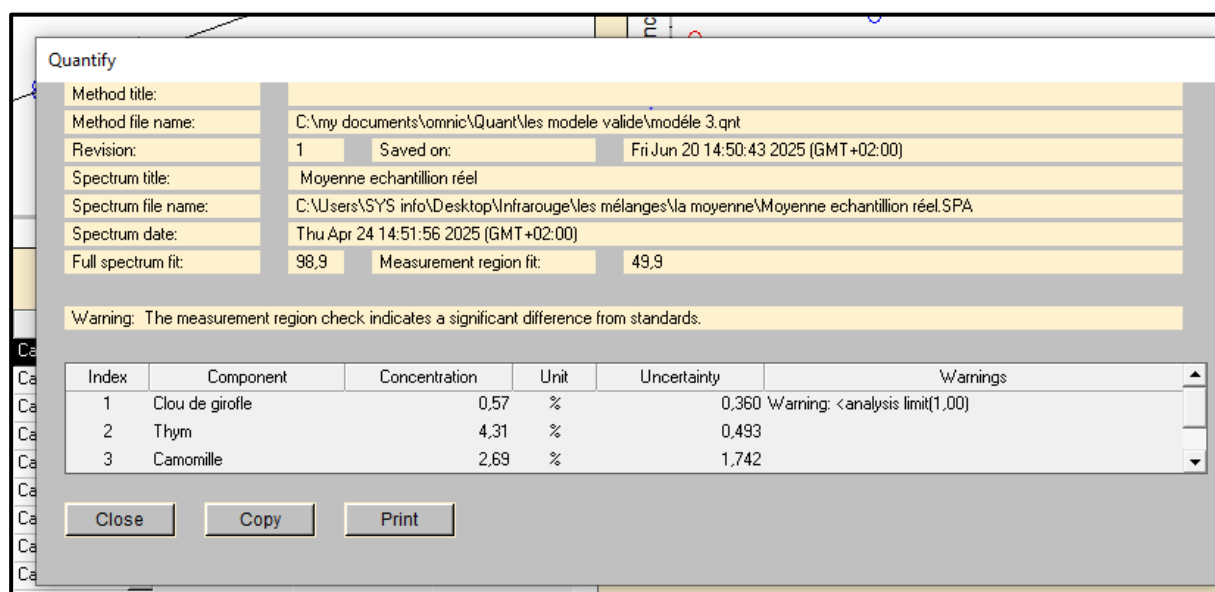


Figure II.22 : Quantification des huiles essentielles de clou de girofle, thym et camomille dans la formulation 3 à l'aide du modèle PLS II (logiciel TQ Analyst).

Tableau II.25 : Teneur des huiles essentielles clou de girofle, thym et camomille dans les formulations commerciales.

	Clou de girofle (%)	Thym (%)	Camomille (%)
F.1	-0.94	-0.38	-31.39
F.2	-0.47	-4.90	1.77
F.3	0.57	4.31	2.69

L'analyse quantitative effectuée à l'aide du modèle PLS optimisé sur trois formulations commerciales montre des différences marquées. Pour F.3 les résultats confirment la présence effective des trois huiles essentielles, avec le thym en concentration majoritaire (4.31 %), suivi de la camomille (2.69%) et du clou de girofle (0.57%). Ces valeurs montrent que cette formulation est bien enrichie en composants naturels actifs en respectant les normes.

En revanche, les résultats obtenus pour F.1 et F.2 présentent des valeurs négatives pour plusieurs huiles essentielles, notamment Le clou de girofle, le thym et la camomille. Ces résultats peuvent sembler incohérents à première vue, mais ils confirment en réalité que ces deux formulations ne contiennent pas ces huiles essentielles, ce qui est cohérent avec leur composition réelle non enrichie.

Ainsi, le fait que le modèle génère des valeurs négatives dans les cas où les huiles ne sont pas présentes démontre sa sensibilité et sa fiabilité. Cette capacité à distinguer entre une vraie présence et une absence réelle confirme que le modèle PLS utilisé est non seulement performant, mais aussi le plus adapté pour ce type d'analyse. Il permet de quantifier avec précision les constituants lorsqu'ils sont présents, et de reconnaître leur absence lorsqu'ils ne le sont pas, ce qui en fait un outil efficace pour l'évaluation de la qualité des formulations commerciales.

La présence d'une faible quantité de camomille (1.77%) dans F.2 est justifiée par la superposition partielle de la bande située dans 1316 cm^{-1} , correspondant aux vibrations O-H ou C-H aromatique de fonctions aromatiques ou phénoliques. Cette observation indique que F.2 contient bien des composés phénoliques, confirmant ainsi la présence.

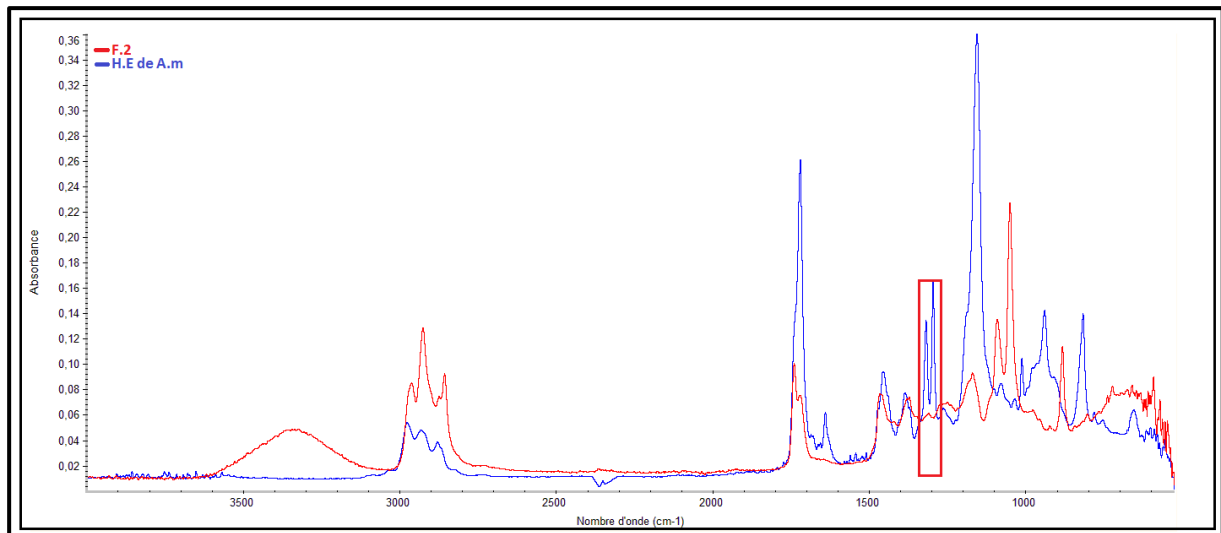


Figure II. 23 : Spectre ATR-IRTF de F.1 et huile essentielle de camomille pure

II.5.9. Méthode des ajouts dosés

II.5.6.1 Principe théorique de la méthode des ajouts dosés

La méthode des ajouts dosés est une technique de dosage utilisée pour déterminer la concentration d'un analyte lorsque la matrice de l'échantillon est complexe ou inconnue. Elle consiste à ajouter des quantités connues de l'analyte à l'échantillon, puis à mesurer la réponse du détecteur après chaque ajout. Cela permet de corriger les effets de la matrice sur le signal.

L'équation utilisée est : **Réponse totale = a. C ajout + Réponse X**

Où a : est la pente de la droite (sensibilité), C : la concentration de l'ajout réalisé

Réponse totale : réponse du détecteur.

Réponse X : réponse du détecteur pour la solution inconnue sans ajout.

L'extrapolation permet de déterminer la concentration inconnue de l'analyte dans l'échantillon.

L'extraction de la droite jusqu'à S totale = 0 permet de déterminer C. Cette méthode améliore la précision des mesures dans les milieux complexes en compensant les effets de matrice.

La méthode des ajouts dosés nous permet de calculer l'exactitude selon la formule :

$$E (\%) = [V_{\text{trouvée}} / (V_{\text{réel}} + V_{\text{ajoutée}})] * 100$$

$V_{\text{trouvée}}$: la valeur trouvée ce que nous avons mesurée ou récupérée à la fin de l'expérience

$V_{\text{réel}}$: la valeur déjà présente dans l'échantillon.

$V_{\text{ajoutée}}$: la valeur connue que nous avons ajoutée , E(%) : l'exactitude .

L'objectif est de vérifier l'effet matrice et d'examiner la fiabilité de la technique, nous avons calculé E (%) en appliquant la méthode des ajouts dosés selon le modèle précédemment sélectionné.

L'analyse du tableau met en évidence analytique basée sur la méthode des ajouts dosés, appliquée à la quantification de trois matrices végétal huile essentielle de clou de girofle, thym et camomille. Pour chaque échantillon, les paramètres évalués incluent la valeur réelle de l'analyte, la valeur ajoutée, la valeur retrouvée après dosage, ainsi que l'exactitude (E)

Tableau II.26 : Résultats du calcul de l'exactitude en (%) par la méthode des ajouts dosés

Analyte	Clou de girofle				Thym				Camomille			
Mélanges synthétiques	V _{pr} (%)	V _{aj} (%)	V _{tr} (%)	E (%)	V _{pr} (%)	V _{aj} (%)	V _{tr} (%)	E (%)	V _{pr} (%)	V _{aj} (%)	V _{tr} (%)	E (%)
1	0.57	0.80	1.41	103	4.31	1	4.54	86	2.69	1.70	3.49	80
2	0.57	2.50	3.41	111	4.31	1.2	4.06	74	2.69	0.50	2.07	65
3	0.57	0.80	2.6	190	4.31	1	5.27	99	2.69	1.70	4.17	95
4	0.57	3.50	4.53	111	4.31	1.9	4.05	65	2.69	2.80	3.83	70

N.B :V_{pr} : considérant la valeur présente dans le mélange et, V_{tr} : considérant la valeur expérimentale, V_{aj}: considérant la valeur ajoutée
 $E (\%) = [(V \text{ trouvée} / (V \text{ présente} + V \text{ ajoutée}) * 100]$.

D'après les résultats obtenus dans le tableau suivant, on a remarqué que les valeurs de pourcentage de l'exactitude de clou de girofle sont proches ou supérieures à 100 %, ce qui indique une méthode sensible et reproductible. Toutefois, certaines récupérations anormalement élevées (jusqu'à 189,81 %) suggèrent la présence possible d'interférences analytiques, d'un effet de matrice, ou encore de surcharges expérimentales, pouvant fausser les résultats. Malgré tout, la méthode semble donner des résultats cohérents dans la majorité des cas.

En ce qui concerne le thym et la camomille, l'exactitude observés varient respectivement entre 65,22 % et 99,25 %, et entre 64,89 % et 94,99 %.

Ces résultats reflètent une précision intermédiaire, mais globalement acceptable. Donc la méthode utilisée est relativement fiable, bien qu'une légère perte puisse survenir, en particulier lors de faibles ajouts.

II.5.10. Evaluation de la durabilité de la méthode

Pour classer la méthode analytique IRTF dans l'échantillon du certificat vert, il faut calculer les points de pénalité pour les réactifs utilisés et l'instrument et les déchets sont calculés selon les critères établis dans la littérature et les résultats résumés dans le tableau.

Tableau II.27 : Evaluation écologique ATR-IRTF.

		Coefficient de danger	Point de pénalité
réactifs	/	0	0
instrument	Balance	0	0
	IRTF	0	0
déchet	/		0
Point de pénalité totale			0
Score totale %			100%

Au regard des points de pénalité calculés et du score total obtenu (tableau II.27), la méthode développée peut être qualifiée d'excellente approche d'analyse verte.

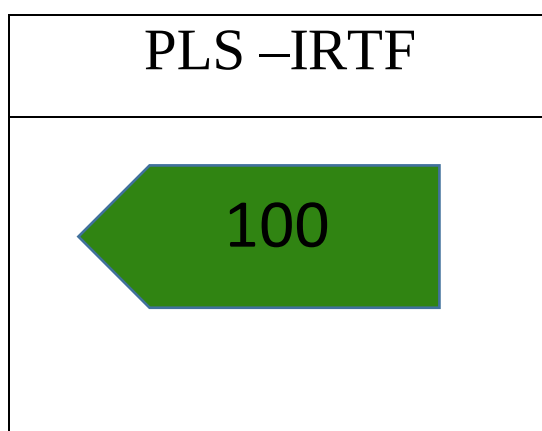
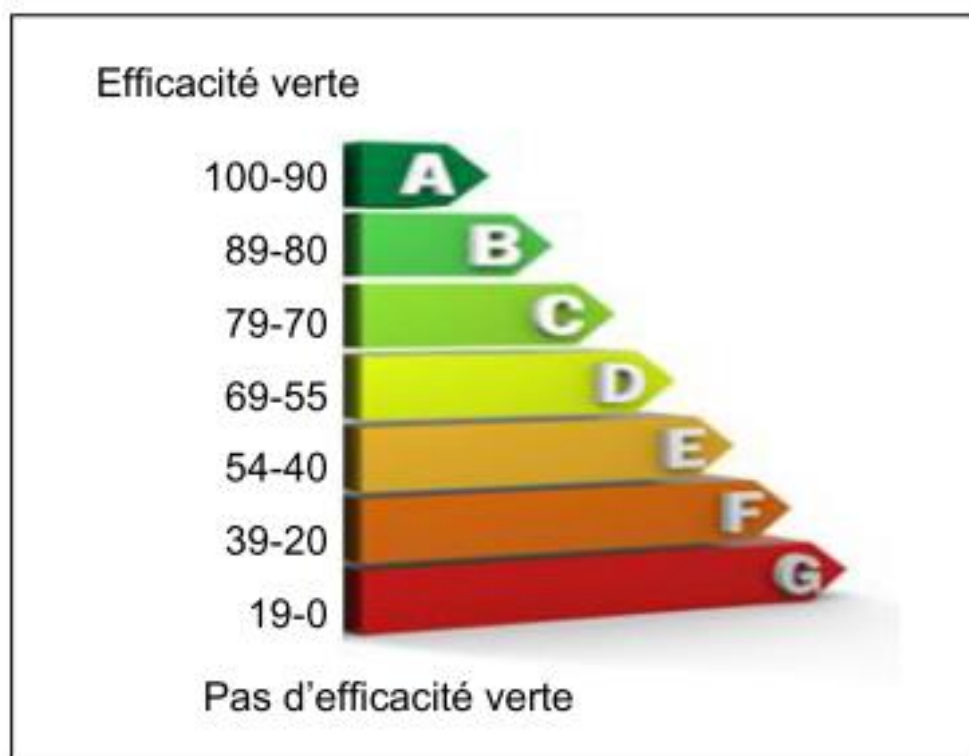


Figure II.24 : Certificat vert de la méthode développée pour la détermination des huiles essentielles dans formulation par PLS –IRTF

Conclusion générale

Dans le cadre de ce travail, nous avons poursuivi l'objectif de développer et valider une approche méthodologique pour la quantification des huiles essentielles issues de plantes médicinales et aromatiques. Cette approche repose sur la combinaison de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et la calibration multivariée fondée sur la régression des moindres carrés partiels (PLS). Cette étude constitue une contribution significative au champ des produits naturels, en offrant un outil méthodologique complémentaire au service des chercheurs.

Une étude qualitative a été menée en vue de comparer les huiles essentielles pures commerciales étiquetées comme « 100 % pures » et obtenues par entraînement à la vapeur (E_v) à celles préparées au laboratoire à partir de la matière végétale sèche. Les résultats ont montré des spectres identiques, attestant de la pureté des huiles analysées. Une analyse spectrale des bandes caractéristiques a ensuite été réalisée afin d'identifier les principales fonctions chimiques des composés présents dans les formulations d'huiles essentielles (F.1, F.2 et F.3). Toutefois, en raison de l'indisponibilité de certaines huiles essentielles nécessaires à la préparation des mélanges F.1 et F.2, l'étude quantitative s'est concentrée sur le mélange F.3, composé d'huiles essentielles de clou de girofle, de thym et de camomille.

Pour la préparation des étalons, l'huile de tournesol a été retenue comme solvant, ce choix étant justifié par l'analyse qualitative des spectres qui n'a révélé aucune différence significative avec les autres huiles végétales testées. Cette huile a en outre été privilégiée pour sa disponibilité sur le marché et son coût réduit par rapport à d'autres huiles. Une calibration individuelle des huiles essentielles qui constituent la formulation F.3 a été réalisée. Cependant, les modèles monovariés se sont révélés insuffisants pour assurer une quantification simultanée précise des composés cibles, en raison du chevauchement important des pics caractéristiques. Face à cette limitation, nous avons eu recours à la méthode de calibration multivariée. Des modèles PLS (PLS-IRTF) ont été développés sur la base des données spectrales obtenues. Nous avons étudié les différents paramètres d'optimisation lors de cette modélisation à savoir les gammes d'optimisation, les traitements spectraux (sans prétraitement des données, hauteur non corrigée, hauteur corrigée et dérivée première), les régions spectrales utilisées et les variables latentes.

Le paramètre principal choisi pour établir les meilleurs modèles est le *RMSEP* le plus faible en considérant les régions spectrales $811\text{-}802\text{ cm}^{-1}$, $895\text{-}855\text{ cm}^{-1}$, $1005\text{-}985\text{ cm}^{-1}$ et $1599\text{-}1579\text{ cm}^{-1}$ pour le clous de girofle, $1045\text{-}1024\text{ cm}^{-1}$, $1282\text{-}1260\text{ cm}^{-1}$ et $1536\text{-}1492\text{ cm}^{-1}$ pour le thym et $1324\text{-}1288\text{ cm}^{-1}$ pour la camomille.

Le modèle PLS II développé est le modèle le plus adéquat pour la détermination simultanée des trois huiles essentielles en fournissant des erreurs de prédiction *RMSEP* les plus faibles de 0.187, 0.216 et 0.357 pour le clou de girofle, le thym et la camomille, respectivement.

Les résultats obtenus montrent une bonne corrélation entre les valeurs prédites et les valeurs réelles pour les mélanges synthétiques des huiles essentielles étudiées.

Les teneurs des trois huiles essentielles dans la formulation F.3 obtenues selon la méthode développée sont 0.57%, 4.31% et 2.69% pour le clou de girofle, le thym et la camomille, respectivement.

La méthode ATR-IRTF développée se distingue par son caractère écologique, autorisant l'analyse directe des échantillons avec un recours limité aux solvants, exclusivement verts, et sans étapes de traitement polluantes. Elle répond ainsi pleinement aux critères d'une « excellente analyse verte ».

Références bibliographiques

1. Bounaas K. Développement de nouvelles méthodes d'analyse de métabolites dans des formulations, à base des substances naturelles, par spectroscopie IRTF [thèse de doctorat]. Blida (Algérie) : Université Saad Dahlab Blida 1; 2020.
2. Aboughe Angone S, Aworet Samseny RRR, Eyele Mve Mba C. Quelques propriétés des huiles essentielles des plantes médicinales du Gabon. *Phytothérapie*. 2015;13(5):283–7.
3. Do TKT, Hadji-Minaglou F, Antoniotti S, Fernandez X. Authenticity of essential oils. *TrAC Trends Anal Chem*. 2015;66:146–57.
4. Boukhatem MN, Hamaidi MS, Saidi F, Hakim Y. Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du géranium rosat (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature Technol*. 2010;(3):37.
5. Boudemagh R, Khalfaoui H, Chelli M. Extraction des huiles essentielles et des extraits de deux plantes médicinales (*Eucalyptus globulus* et *Origanum vulgare*) en vue d'une formulation d'un Vicks dermique anti-inflammatoire. 2024.
6. Charchari S, Chahboub A. Optimisation de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* Lab. s.d.
7. Tisserand R, Young R. Essential oil safety: A guide for health care professionals. 2nd ed. Elsevier Health Sciences; 2013.
8. AFNOR, International Organization for Standardization. Norme ISO 16128 – Lignes directrices sur les définitions techniques pour les ingrédients cosmétiques naturels et biologiques. Parties 1 et 2. Paris: AFNOR; 2016.
9. Segneanu AE, Grozescu I, Sfirloaga P, Dabici A, Szabadai Z. Organic compounds FT-IR spectroscopy. In: Uddin J, editor. Macro to nano spectroscopy. London: IntechOpen; 2012. p. 3–26.
10. Dubernet M, Dubernet M. Utilisation de l'analyse infrarouge à transformée de Fourier pour l'analyse œnologique de routine. *Rev Fr Œnol*. 2000;(181):10–13.
11. Gok S, Severcan M, Goormaghtigh E, Kandemir I, Severcan F. Differentiation of Anatolian honey samples from different botanical origins by ATR-FTIR spectroscopy using multivariate analysis. *Food Chem*. 2015;170:234–40.

12. Van Straaten J, Peppas NA. ATR-FTIR analysis of protein adsorption on polymeric surfaces. *J Biomater Sci Polym Ed.* 1991;2(2):113–21.
13. Bensemmane N. Quantification des acides phénoliques contenus dans les extraits de plantes aromatiques par spectroscopie IRTF en mode transmission et ATR en exploitant la procédure de régression PLS [thèse de doctorat]. Blida: Université Saad Dahlab Blida 1; 2021.
14. Chabrier JY. Medicinal plants and forms of use in herbal medicine / Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Nancy: Université Henri Poincaré; 2010.
15. Padulosi S, Leaman D, Quek P. Challenges and opportunities in enhancing the conservation and use of medicinal and aromatic plants. *J Herbs Spices Med Plants.* 2002;9(4):243–67.
16. Ancuceanu R, Hovanet MV, Dinu M. Variation of polyphenols and iron concentration in *Mentha × piperita* L. by development stage and soil type. *Farmacia.* 2017;65(5):748–54.
17. Nebié B. Composition chimique et activités biologiques d'huiles essentielles obtenues par co-distillation de quelques plantes aromatiques du Burkina Faso [mémoire de master]. Bobo-Dioulasso: Université Nazi Boni; 2023.
18. Iserin P, Masson M. Encyclopédie des plantes médicinales. Paris: Larousse; 2007.
19. Kuete V. *Thymus vulgaris*. In: Kuete V, editor. Medicinal spices and vegetables from Africa. London: Academic Press; 2017. p. 599–609.
20. Reddy VP, Vital KR, Reddy YR. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties. *Med Aromat Plants.* 2014;3(164):2167–0412.
21. Belmont M. *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula × intermedia* E. : Études botaniques, chimiques et thérapeutiques [mémoire de master]. Grenoble: Université Joseph Fourier, Faculté de pharmacie; 2013.
22. Dobros N, Zawada KD, Kowalczyk M. Phytochemical profiling, antioxidant and anti-inflammatory activity of plants belonging to the *Lavandula* genus. *Molecules.* 2022;28(1):256.
23. Nedeltcheva-Antonova D, Gechovska K, Stoyanova A, Damyanova S. Exploring the chemical composition of Bulgarian lavender absolute (*Lavandula angustifolia* Mill.) by GC/MS and GC-FID. *Plants.* 2022;11(22):3150.

24. Barka A, Hachemi B. Compositions chimiques et activités biologiques des huiles essentielles de *Lavandula angustifolia* [mémoire de master]. Biskra: Université de Biskra.
25. Kaur K, Kaushal S. Phytochemistry and pharmacological aspects of *Syzygium aromaticum*: A review. *J Pharmacogn Phytochem*. 2019;8(1):398–406.
26. Chabert G. Myrtacées et aromathérapie [thèse de doctorat en pharmacie]. Grenoble: Université Joseph Fourier; 2013.
27. Lobstein A, Couic-Marinier F, Schmitt A. Huile essentielle de clou de girofle. *Actual Pharm*. 2017;56(569):59–61.
28. Al-Snafi AE. Medical importance of *Anthemis nobilis* (*Chamaemelum nobile*) – A review. *Asian J Pharm Sci Technol*. 2016;6(2):89–95.
29. Zhao J, Khan S, Wang M, Zhang D. Octulosonic acid derivatives from Roman chamomile (*Chamaemelum nobile*) with activities against inflammation and metabolic disorder. *J Nat Prod*. 2014;77(1).
30. Morillas-Cruz AY, Miranda-Huaman MJ, Rojas-Armas JP. *Chamaemelum nobile*: una revisión de usos tradicionales, fitoquímica y farmacología. *Rev Peru Med Integr*. 2022;7(3).
31. Farhat A. Vapo-diffusion assistée par micro-ondes : conception, optimisation et application [thèse de doctorat]. Avignon-Tunisie: Université d'Avignon et ENI de Gabès; 2010.
32. Bilal GM. Composition chimique, activité antimicrobienne et antioxydante de trois plantes aromatiques [mémoire de master]. Ouargla: Université Kasdi Merbah–Ouargla; 2016.
33. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem Toxicol*. 2008;46(2):446–75.
34. Amina MD. Étude phytochimique et activité biologique des deux espèces : *Teucrium polium* L. et *Pituranthos chloranthus* Coss. et Dur. [mémoire de master]. Annaba: Université Badji Mokhtar; 2018.
35. Ochoa LRH. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné « solvant/actif » d'origine végétale [thèse de doctorat]. Toulouse: Institut National Polytechnique de Toulouse; 2005.
36. Bazi I, Belhacel K. Étude de l'efficacité de trois huiles essentielles : la menthe poivrée (*Mentha piperita* L.), la marjolaine à coquilles (*Origanum majorana* L.) et la sauge sclérée (*Salvia sclarea* L.) à l'égard de *Tribolium confusum* (Coleoptera : Tenebrionidae) [mémoire de mastère]. Tizi Ouzou: Université Mouloud Mammeri; 2023.

37. Pour P. Éco-extraction d'huiles essentielles de trois espèces végétales aromatiques en vue d'une application comme agents antioxydants et antimicrobiens : étude expérimentale et modélisation [thèse de doctorat]. Annaba: Université Badji Mokhtar; 2019.
38. Bessah R, Benyoussef EH. La filière des huiles essentielles : état de l'art, impacts et enjeux socioéconomiques. *J Renew Energies*. 2015;18(3):513–28.
39. Elabed W, Souidi Y, et al. Étude de l'extraction des huiles essentielles par différentes méthodes. 2023.
40. Boualleg M, [Nom complet de B. R.]. Optimisation des paramètres d'extraction de l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*. 2021.
41. Li Y, Fabiano-Tixier AS, Chemat F. Essential oils as reagents in green chemistry. Springer; 2014.
42. Malti CEW. Étude des activités biologiques et de la composition chimique des huiles essentielles de trois plantes aromatiques d'Algérie : *Pituranthos scoparius* (Guezzah), *Santolina africana* (El Djouada) et *Cymbopogon schoenanthus* (El Lemad) [thèse de doctorat]. Tlemcen: Université Abou Bekr Belkaid; 2019.
43. Boukhatem MN, Ferhat A, et al. Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *UNE*. 2019;3(4):1653–59.
44. Ben Miri Y. Essential oils: Chemical composition and diverse biological activities: A comprehensive review. *Nat Prod Commun*. 2025;20(1):1934578X241311790.
45. Haro González J, Castillo-Herrera G, Romero-Castillo KD, Ventura-Sobrevilla JM, Rodríguez-Herrera R. Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L., Myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivities for human health. *Plants*. 2021;10(8):1925.
46. Biernasiuk A, Baj T, Sieniawska E, Głowniak-Malinska M. Clove essential oil and its main constituent, eugenol, as potential natural antifungals against *Candida* spp. alone or in combination with other antimycotics due to synergistic interactions. *Molecules*. 2023;28(1):215.
47. Selka MA, Chenafa A, et al. [Development and biological activity evaluation of clove essential oil-based emulsion]. *Ann Pharm Fr*. 2022;80(4):50.
48. Romain MD. L'alternative aux antalgiques opiacés par l'aromathérapie [mémoire de master]. Lille: Université de Lille; 2021.
49. Bounaas K, Bouzidi N, et al. Essential oil counterfeit identification through middle infrared spectroscopy. *Microchem J*. 2018;139:347–56.

50. Torras J, Grau MD, et al. Analysis of essential oils from chemotypes of *Thymus vulgaris* in Catalonia. *J Sci Food Agric*. 2007;87(12):2327–33.
51. Najar B, Pistelli L, Flamini G, Morelli I, Fico G. Crop yield and essential oil composition of two *Thymus vulgaris* chemotypes along three years of organic cultivation in a hilly area of central Italy. *Molecules*. 2021;26(16):5109.
52. Marchese A, Orhan IE, Daglia M, Barbieri R, Di Lorenzo A, Nabavi SF, et al. Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. *Food Chem*. 2016;210:402–14.
53. Kaloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martino E, Abou L, Chahine R. Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*. 2008;6(3):160–4.
54. Abdelli, W. (2017). Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris* [Thèse de doctorat, Université de Mostaganem–Abdelhamid Ibn Badis].
55. Sadou, S. (2022). Étude préliminaire sur les effets de l’huile essentielle de la lavande (*Lavandula angustifolia*) sur les structures testiculaires et épидидymaires des lapins mâles prépubères de la souche synthétique [Mémoire de master, Université Mouloud Mammeri].
56. Eldeghedy, H. I., El-Gendy, A. E.-N. G., & El Gohary, A. A. (2022). Chemical composition of essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula hybrida* cultivated in Egypt and their biological activities. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(11), 595–610.
57. Cavanagh, H., & Wilkinson, J. (2002). Biological activities of lavender essential oil. *Phytotherapy Research*, 16(4), 301–308.
58. Zaidi, S., & Dahiya, P. (2015). In vitro antimicrobial activity, phytochemical analysis and total phenolic content of essential oil from *Mentha spicata* and *Mentha piperita*. *International Food Research Journal*, 22(6), 2440.
59. Taylan, O., Cebi, N., Gok, S., Akyol, H., & Sagdic, O. (2021). Rapid screening of *Mentha spicata* essential oil and L-menthol in *Mentha piperita* essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses. *Foods*, 10(2), 202.
60. Hudz, N., Kobylinska, L., Skalska-Kamińska, A., & Goryacha, O. (2023). *Mentha piperita*: Essential oil and extracts, their biological activities, and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. *Molecules*, 28(21), 7444.

61. Dhakad, A. K., Pandey, V. V., Beg, S., Rawat, J. M., & Singh, A. (2018). Biological, medicinal and toxicological significance of Eucalyptus leaf essential oil: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(3), 833–848.
62. Koziol, N. (2015). Huiles essentielles d'Eucalyptus globulus, d'Eucalyptus radiata et de Corymbia citriodora: qualité, efficacité et toxicité. Université de Lausanne, Faculté de biologie et de médecine.
63. Ibacterial activity of Pinus halepensis Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 97–103.
64. Seladji, D. (2014). Composition chimique, propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des huiles essentielles des racines de trois Pinaceae d'Algérie [Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen].
65. Dob, T., Berramdane, T., Dahmane, D., Benabdelkader, T., & Chelghoum, C. (2005). Chemical composition of essential oil of Pinus halepensis Miller growing in Algeria. *Comptes Rendus Chimie*, 8(11), 1939–1945.
66. Lis-Balchin, M. (2006). Aromatherapy science: A guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press.
67. Baudoux, D. (n.d.). Pratique de l'aromathérapie. Éditions Amyris.
68. Coblenz, W. W. (1905). Investigations of infrared spectra. Carnegie Institution of Washington. (Publication No. 35).
69. Günzler, H., & Gremlich, H.-U. (2002). IR spectroscopy: An introduction. Wiley-VCH.
70. Gremlich, H.-U. (2000). Infrared and Raman spectroscopy. In *Analytical Techniques in Combinatorial Chemistry* (pp. 65–76). CRC Press.
71. Steele, D. (2002). Spectroscopie infrarouge : théorie. In J. M. Chalmers & P. R. Griffiths (Eds.), *Handbook of Vibrational Spectroscopy* (Vol. 1, pp. 44–70). Wiley.
72. Bograh, A. (1998, mars). Effet des anions inorganiques, des polyamines et du cholestérol sur les structures secondaires des protéines du photosystème II (Mémoire de maîtrise). Université du Québec.
73. Metrohm. (2024). Spectroscopie NIR vs IR : comprendre la différence. https://www.metrohm.com/fr_fr/decouvrir/blog/2024/nir-vs-ir.htm.
74. Camille, T. (2010). Caractérisation et quantification des minéraux argileux dans les sols expansifs par spectroscopie infrarouge aux échelles du laboratoire et du terrain (Thèse de doctorat, Université de Toulouse).

75. Asma, M. M., Abir, H., et al. (2023–2024). Extraction et analyse du mucilage de *Malva sylvestris* L. : Évaluation de son utilisation dans une formulation cosmétique.
76. Oueslati, N. (2012). Identification des intermédiaires de la réduction du dioxygène par la cytochrome c oxydase et ses modèles en faisant appel à la spectroscopie IR différentielle (Thèse de doctorat, Université de Strasbourg).
77. Hardesty, J. H., & Attili, B. (2010). Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law: An important analytical technique in chemistry. Department of Chemistry, Collin College.
78. Little, T. (2015). Method validation essentials: Limit of blank, limit of detection, and limit of quantitation.
79. Shrivastava, A., & Gupta, V. B. (2011). Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists*, 2(1), 21–25.
80. R. S. Deviation, & S. L. Subcommands. (n.d.). Relative standard deviation.
81. Tenenhaus, M., Gauchi, J.-P., & et al. (1995). Régression PLS et applications. *Revue de Statistique Appliquée*, 43(1), 7–63.
82. Desbois, D. (s.d.). Introduction à la régression des moindres carrés partiels avec la procédure PLS de SAS. Institut National de la Recherche Agronomique - Économie et Sociologie Rurales (INRA-ESR), Nancy.
83. De la Guardia, M., & Garrigues, S. (2012). Le concept de chimie analytique verte. Dans *Manuel de chimie analytique verte*. Wiley.
84. De la Guardia, M., & Garrigues, S. (2011). Un engagement éthique et une opportunité économique : Défis de la chimie analytique verte. *Royal Society of Chemistry*.
85. Valcárcel, M., Cárdenas, S., & Lucena, R. (2017). *Analytical microextraction techniques*. Bentham Science Publishers.
86. Gałuszka, A., Migaszwski, Z. M., Konieczka, P., & Namieśnik, J. (2012). Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 37, 61–72.
87. Benyoussef, E.-H., Hasni, S., Belabbes, R., & Bessière, J.-M. (2002). Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'huile essentielle des fruits de coriandre. *Chemical Engineering Journal*, 85(1), 1–5.

88. Meziane, D. (2014). Extraction assistée par micro-ondes des antioxydants à partir du *Rosmarinus officinalis* L. et de ses coproduits (Thèse de doctorat, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Alger).
89. Périno-Issartier, S., Ginies, C., Cravotto, G., & Chemat, F. (2013). A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, steam and hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*, 1305, 41–47.
90. Scalia, S., Giuffreda, L., & Pallado, P. (1999). Analytical and preparative supercritical fluid extraction of chamomile flowers and its comparison with conventional methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 21(3), 549–558.
91. Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S., & Quan, C. (2007). Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods. *Food Chemistry*, 101(4), 1558–1564.
92. Kapadiya, S. M., Parikh, J., & Desai, M. A. (2018). A greener approach towards isolating clove oil from buds of *Syzygium aromaticum* using microwave radiation. *Industrial Crops and Products*, 112, 626–632.
93. Ayoub, A., Fatima, K., M'hamed, E., Mohammed, T., El Hassan, A., et al. (2018). Chemical study by GC-MS of the essential oils of certain mints grown in the region of Settat (Morocco): *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* and *Mentha spicata*. *Drug Design & Intellectual Properties International Journal (DDIPIJ)*, 1(4), 4.
94. Agatonovic-Kustrin, S., Ristivojevic, P., Gegechkori, V., Litvinova, T. M., & Morton, D. W. (2020). Essential oil quality and purity evaluation via FT-IR spectroscopy and pattern recognition techniques. *Applied Sciences*, 10(20), 7294.
95. Tarhan, İ., Çelikten, Ş., Kestek, H. M., Çelik, B., Öner, M., Kenar, A., & Kara, H. (2023). Development of a new and rapid FTIR method using chemometric modeling techniques for the determination of lavandin adulteration in lavender essential oil. *Vibrational Spectroscopy*, 127, 103559.
96. Guntarti, A., Nurani, L. H., Lestari, P., Edityaningrum, C. A., Irham, L. M., & Rohman, A. (2024). Authentication of clove leaf oil in products (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry) using GC-MS and FTIR methods combined with chemometric. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 28(3), 664–680.
97. Hani, H. (2020). Caractérisation et diversité de la composition chimique des huiles essentielles des rameaux feuillés du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans deux biotopes différents (Mémoire de master, Université Saad Dahlab Blida 1).

98. Taylan, O., Cebi, N., Yilmaz, M. T., Sagdic, O., & Karakaya, S. (2021). Rapid screening of *Mentha spicata* essential oil and L-menthol in *Mentha piperita* essential oil by ATR-FTIR spectroscopy coupled with multivariate analyses. *Foods*, 10(2), 202.
99. Riswanto, F. D. O., Windarsih, A., Putri, D. C. A., & Gani, M. R. (2023). An integrated authentication analysis of *Citrus aurantium* L. essential oil based on FTIR spectroscopy and chemometrics with tuning parameters. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 34(2), 205–217.
100. Sufriadi, E., Idroes, R., Meilina, H., Munawar, A. A., Lelifajri, & Indrayanto, G. (2023). Partial least squares-discriminant analysis classification for patchouli oil adulteration detection by Fourier transform infrared spectroscopy in combination with chemometrics. *ACS Omega*, 8(13), 12348–12361.
101. Baranska, M., Schulz, H., Walter, A., Rösch, P., Quilitzsch, R., Lösing, G., & Popp, J. (2006). Investigation of eucalyptus essential oil by using vibrational spectroscopy methods. *Vibrational Spectroscopy*, 42, 341–345.
102. Truzzi, E., Durante, C., Bertelli, D., Catellani, B., Pellacani, S., & Benvenuti, S. (2022). Rapid classification and recognition method of the species and chemotypes of essential oils by ATR-FTIR spectroscopy coupled with chemometrics. *Molecules*, 27(17), 5618.
103. Kucharska-Ambrożej, K., Martyna, A., Karpińska, J., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., & Kubat-Sikorska, A. (2021). Quality control of mint species based on UV-VIS and FTIR spectral data supported by chemometric tools.
104. Li, B., Zhang, C., Zuo, Y., Zhang, L., Han, J., & Wang, Y. (2015). Comparison of essential oil composition and phenolic acid content of selected *Salvia* species measured by GC–MS and HPLC methods. *Industrial Crops and Products*, 69, 329–334.
105. Fan, H., Wu, Q., Wang, Y., Liao, Y., & Li, J. (2015). Authenticity analysis of citrus essential oils by HPLC-UV-MS on oxygenated heterocyclic components. *Journal of Food and Drug Analysis*, 23(1), 30–39.
106. Ródenas-Montano, J., Carrasco-Correa, E. J., Cuadros-Rodríguez, L., & Sánchez-Rojas, F. (2013). Determination of alcohols in essential oils by liquid chromatography with ultraviolet detection after chromogenic derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1296, 157–163.
107. Fekhar, M. (2024). Nouvelles méthodes de contrôle qualité des produits de tabac à chiquer sans fumée "Chemma" par spectroscopie ATR-IRTF combinée à la chimiométrie [Thèse de doctorat, Université Blida 1].
108. <https://wikifarmer.com/library/fr/article/rendement-dhuile-essentielle-de-thym>.
109. Imre, S., Esianu, S., Simu, G., & Vari, C. E. (2016). Qualitative assay of essential oils of lavender and peppermint in commercial products through spectral and chromatographic methods. *Journal of Farmacia*, 64, 857–862.

110. Ahamad, J., Omer, A. Y., Alzahrani, A. S., & Alharbi, K. S. (2022). Chemical characterization and detection of adulteration in essential oil of *Lavandula angustifolia* Linn. by ATR-FTIR. *Eurasian Journal of Science and Engineering*, 8(3), 150–157.
111. El Orche, A., El Mrabet, A., Bouhrim, M., Bakour, M., Aazza, S., & Bnouham, M. (2024). Integration of FTIR spectroscopy, volatile compound profiling, and chemometric techniques for advanced geographical and varietal analysis of Moroccan eucalyptus essential oils. *Sensors*, 24(22), 7337.
112. Baranska, M., Schulz, H., Rösch, P., & Popp, J. (2005). Vibrational spectroscopic studies to acquire a quality control method of Eucalyptus essential oils. *Biopolymers*, 78(5), 237–248.
113. Ahmad, I., Arifianti, A. E., Nuryono, N., & Rohman, A. (2022). The combination of ATR-FTIR and chemometrics for rapid analysis of essential oil from Myrtaceae plants – A review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(12), 30–42.
114. Gad, H., Al-Sayed, E., Ayoub, N., & Singab, A. N. (2021). Phytochemical discrimination of *Pinus* species based on GC–MS and ATR-IR analyses and their impact on *Helicobacter pylori*. *Phytochemical Analysis*, 32(5), 820–835.
115. Rodríguez, J. D. W., Peyron, S., Rojas, J., & Dangles, O. (2018). Rapid quantification of clove (*Syzygium aromaticum*) and spearmint (*Mentha spicata*) essential oils encapsulated in a complex organic matrix using an ATR-FTIR spectroscopic method. *PLOS ONE*, 13(11), e0207401.
116. Biernasiuk, A., Baj, T., Tomczyk, M., Kędzia, B., & Sienkiewicz, M. (2023). Clove essential oil and its main constituent, eugenol, as potential natural antifungals against *Candida* spp. alone or in combination with other antimycotics due to synergistic interactions. *Molecules*, 28(1), 215.
117. Valderrama, A. A., & Rojas, D. G. (2017). Traceability of active compounds of essential oils in antimicrobial food packaging using a chemometric method by ATR-FTIR. *American Journal of Analytical Chemistry*, 8(9), 726–741.
118. Boughendjioua, H., Djeddi, S., & Seridi, R. (2017). A complementary analysis of thyme essential oil by Fourier transformed infrared spectroscopy. *International Journal of Chemical Research*, 1(1), 29–32.
119. Taraj, K., Malollari, I., Dervishi, E., & Leci, E. (2017). Eco-extraction of Albanian chamomile essential oils by liquid CO₂ at different temperatures and characterisation by FTIR spectroscopy. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, 18(1), 117–124.