

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR**  
**ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



**UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA1**  
**FACULTE DES SCIENCES**  
**DEPARTEMENT DE CHIMIE**



Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et de Biomolécules (**LCSN-BioM**)

**SPECIALITE : CHIMIE DES PRODUITS NATURELS**

Mémoire présenté par  
**TEBAG Mohamed Yahia**

**En vue d'obtenir le diplôme de Master**

**Contrôle qualité d'épice de pseudo  
chaleur tel que le poivre noir ;  
Simulation par spectroscopie IRTF**

<b>S.SABOUR</b>	<b>MCB</b>	<b>Président</b>	<b>Université Blida 1</b>
<b>R.ZIANE</b>	<b>MAA</b>	<b>Examinatrice</b>	<b>Université Blida 1</b>
<b>N.BOUZIDI</b>	<b>MCA</b>	<b>Promotrice</b>	<b>Université Blida 1</b>

**Promotion 2019-2020**

## *Remerciements :*

*En tout premier lieu je remercie dieu de m'avoir donné la santé la force d'esprit et la volonté pour réaliser ce travail.*

*Je voudrai remercier, ma promotrice **Dr N. Bouzidi**, pour sa patience, sa disponibilité et ses conseils avisés, qui ont contribué à mettre sur pied ce travail, malgré cette pandémie qui a frappé l'humanité.*

*J'adresse mes sincères remerciements au **Pr Y.Daghbouche**, à **Mme R.ziane**, **Dr O. Touafek**, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé à ce travail.*

*Je remercie aussi le personnel des laboratoires pédagogique de chimie du pavillon 5 et de recherche de chimie des produits naturels de pavillon 8, malgré le bref moment passé à cause de la situation extraordinaire, ainsi que la Doctorante **BENSEMMANE** pour son assistance.*

*Je tiens à remercier chaleureusement les membres de ma famille qui ont toujours était présent pour m'encourager, me soutenir et me conseiller.*

*Enfin, je remercie les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail.*

## *Dédicace*

*A mes chers parents et à mes chères sœurs et frère qui sont toujours disponibles encourageants, bien vaillants et conseillant, nul mot ne serait assez pour exprimer et décrire ma gratitude.*

*Et à la promotion de Master chimie des produits naturels 2019/2020 avec laquelle j'ai passé deux ans qui ont été spéciales pour moi.*

Mr .TEBAG M.Y

## Résumé

Le but principal de ce mémoire est d'utiliser la spectroscopie IRTF en mode ATR pour effectuer une simulation dans le but d'étudier l'adultération du poivre noir par les grignons d'olives. Le poivre noir est surnommé 'roi des épices', il est en demande croissante dans le monde pour non seulement son utilisation gastronomique mais aussi cosmétique ainsi que ses propriétés thérapeutiques. Il est donc indispensable de vérifier l'authenticité du poivre noir commercial. D'abord, la qualité du poivre noir est estimée en référence à la méthodologie proposée par les normes en question. Ensuite, la spectroscopie ATR-IRTF est exploitée pour la détection de la falsification dans cette épice.

Quelques analyses physico-chimiques préliminaires ont été réalisées. Elles ont montré que le poivre noir étudié ne répond pas à toutes les normes.

Afin de se familiariser avec le logiciel 'Omnic' intégré au spectromètre IRTF et pour contrôler la qualité du poivre noir, des simulations portant sur des calibrations monovariante et multivariante ont été réalisées en exploitant une base de données spectrales d'acides appropriés. L'exploitation de ces spectres nous a permis de développer et de valider des modèles de calibration pour déterminer les différents acides phénoliques qui rentrent dans la composition des grignons. La spectroscopie IR en mode ATR fournit une méthode directe, simple et rapide pour étudier l'authentification de cette épice.

Mots clés : poivre noir, fraude, contrôle qualité, piper nigrum, spectroscopie IRTF

## **Abstract**

The main goal of this thesis is the use of IRTF spectroscopy in ATR mode to perform a simulation in order to study the adulteration of black pepper by olive pomace. Black pepper is nicknamed 'king of spices'; it is in increasing demand around the world for not only its gastronomic but also cosmetic use as well as its therapeutic properties. It is therefore essential to verify the authenticity of commercial black pepper. First, the quality of black pepper is estimated with reference to the methodology proposed by the standards in question. Second, ATR – IRTF spectroscopy is used to detect adulteration in this spice.

Some preliminary physico-chemical analyzes were carried out They showed that the black pepper studied does not meet all the standards.

In order to become familiar with the 'Omnic' software integrated into the IRTF spectrometer and to control the quality of the black pepper, simulations relating to monovariate and multivariate calibrations were carried out using an appropriate spectral database of acids. The use of these spectra has enabled us to develop and validate calibration models to determine the different phenolic acids that go into the composition of pomace. IR spectroscopy in ATR mode provides a direct, simple and fast method to study the authentication of this spice.

Keywords: , black pepper, , quality control, piper nigrum, IRTF spectroscopy

## ملخص

الغرض الرئيسي من هذه الأطروحة هو استخدام التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء لإجراء محاكاة لدراسة غش الفلفل الأسود بواسطة ثفل الزيتون. يُطلق على الفلفل الأسود لقب "ملك التوابل"، حيث يزداد الطلب عليه في جميع أنحاء العالم ليس فقط من حيث استعماله في الطبخ ولكن أيضاً لاستخدامه في مستحضرات التجميل بالإضافة إلى خصائصه العلاجية. لذلك من الضروري التحقق من صحة الفلفل الأسود التجاري، أولاً، يتم تقدير جودة الفلفل الأسود بالرجوع إلى المنهجية المقترحة من قبل المعايير المعنية. بعد ذلك، يتم استغلال التحليل الطيفي للكشف عن الغش في هذه التوابل.

تم إجراء بعض التحليلات الفيزيائية والكيميائية الأولية التي أظهرت أن الفلفل الأسود المدروس لا يفي بجميع المعايير.

من أجل التعرف على البرنامج المدمج في مطياف الأشعة تحت الحمراء وللتحكم في جودة الفلفل الأسود، تم إجراء عمليات المحاكاة المتعلقة بالمعايير أحادية المتغير ومتعددة المتغيرات باستخدام قاعدة بيانات طيفية مناسبة للأحماض. لقد مكنا استخدام هذه الأطياف من تطوير نماذج المعايرة والتحقق من صحتها لتحديد الأحماض الفينولية المختلفة التي تدخل في تكوين الثفل. يوفر التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء طريقة مباشرة وبسيطة وسريعة لدراسة مصادقة هذه التوابل.

الكلمات المفتاحية: الفلفل، الفلفل الأسود، الغش، مراقبة الجودة، باير نيغروم، مطيافية

# Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction générale

## Chapitre I : Revue bibliographique

<b>I.1</b> Historique_____	2
<b>I.2</b> Classification botanique_____	3
<b>I.3</b> Description du <i>Piper nigrum L</i> _____	4
<b>I.4</b> Caractères végétatifs_____	4
<b>I.5</b> Le fruit_____	4
<b>I.6</b> Partie utilisée de la plante_____	5
<b>I.7</b> Culture du poivre noir_____	5
<b>I.8</b> Distribution et production_____	6
<b>I.9</b> Type de poivre_____	6
<b>I.10</b> Propriétés thérapeutique_____	7
<b>a)</b> Activité anti-oxydante_____	7
<b>b)</b> Activité anti-cancer et anti-tumeur_____	8
<b>c)</b> Activité anti-inflammatoire_____	8
<b>d)</b> Bio-amplificateur_____	8
<b>e)</b> Anti-diarrhéique et actions sur le système digestif_____	8
<b>I.11</b> Utilisation gastronomique_____	9
<b>I.12</b> Utilisation cosmétique_____	9
<b>a)</b> Amélioration de la santé bucco-dentaire_____	9
<b>b)</b> Aide à arrêter de fumer_____	9
<b>c)</b> Lutte contre les rides_____	10
<b>d)</b> Exfoliant pour la peau_____	10

e) Aide à traité le vitiligo_____	10
f) Aide à traiter les pellicules_____	10
g) Revitalisant pour les cheveux_____	10
<b>I.13</b> Méthode d'extraction de la fraction non volatile_____	11
a) CO <sub>2</sub> supercritique _____	11
b) Extraction assistée par Ultrasons_____	11
c) Extraction assistée par Microondes_____	11
d) Enzymatique assisté par surfactant_____	12
e) Par Soxhlet_____	12
<b>I.13.1</b> Isolation de la pipérine de la fraction non-volatile_____	13
<b>I.14</b> Méthodes d'analyse_____	13
<b>I.14.1</b> Analyse physico-chimique_____	13
1. Détermination du pH_____	15
2. Teneur en humidité_____	15
3. Teneur en cendres _____	16
4. Matières étrangères_____	16
5. Cendre insoluble dans l'acide_____	16
6. Détection de grains de papayes_____	17
7. Extrait soluble dans l'eau froide_____	17
8. Extrait soluble dans l'alcool _____	18
9. Extrait non volatil d'éther _____	18
<b>I.14.2</b> Analyse spectroscopique_____	19
<b>I.14.2.1</b> FT-IR _____	20
<b>I.14.2.2</b> UV-visible _____	21
<b>I.15</b> Composition chimique_____	21
<b>I.14.2.3</b> Analyses chromatographiques_____	21
a) Composition chimique générale_____	21

<b>b)</b> Composition de la fraction volatile (l'huile essentielle) du poivre noir _____	22
<b>1.</b> Techniques d'extraction _____	23
<b>2.</b> Nature du cultivar et surtout des lieux de culture _____	23
<b>3.</b> Etat de maturité du cultivar _____	23
<b>4.</b> Type de traitement et mode de séchage _____	23
<b>5.</b> La durée de conservation _____	23
<b>c)</b> Composition de La fraction non-volatile de l'oléorésine _____	24
<b>I.16</b> Adultération _____	26

## **Chapitre II : Expérimental, Simulation et résultats**

Introduction _____	27
<b>II.1</b> Analyses physico-chimiques _____	27
<b>a)</b> pH _____	27
<b>b)</b> Teneur en cendres _____	28
<b>c)</b> Teneur en baies légères _____	28
<b>d)</b> Teneur de matières étrangères _____	28
<b>II.2</b> Construction d'un système quantitatif ou modèle qualitatif multivariée _____	30
<b>1.</b> Sélection d'échantillons _____	31
<b>2.</b> Acquisition des spectres et des données de la matrice _____	31
<b>3.</b> Prétraitement des échantillons _____	31
<b>4.</b> Sélection des variables _____	31
<b>5.</b> Construction et validation des modèles _____	31
<b>6.</b> Interprétation du modèle et application _____	32
<b>II.3</b> Simulation _____	32
<b>II.3.1</b> Calibration monovariée d'un composé _____	32
<b>II.3.1.1</b> Matériel et méthodes _____	33
<b>a)</b> Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) _____	33

b) Logiciels_____	34
1. OMNIC_____	34
2. TQ Analyst_____	34
c) Paramètres analytiques de la calibration d'un échantillon dans un solvant par FTIR	35
d) Manipulation sur logiciel (TQ Analyst) _____	35
e) Exploitation des droites de calibration_____	43
<b>II.3.2</b> La méthode des moindres carrés partiels (PLS) _____	44
<b>II.3.2.1</b> Erreurs et coefficients reliés à la PLS_____	44
<b>II.3.2.2</b> Validation Croisée_____	45
<b>II.3.3</b> Données et traitement_____	45
<b>II.3.4</b> Etape à suivre sur TQ Analyst_____	47
<b>II.4</b> Acquisition des résultats_____	50
<b>II.4.1</b> Calibration PLS d'une matrice à trois étalons_____	50
<b>II.4.2</b> Calibration, validation et prédiction PLS d'une matrice à trois étalons_____	52
<b>II.4.3</b> Quantification de différents échantillons commerciaux par PLS-FTIR_____	54

## **Conclusion**

## **Références**

## Liste des Figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1 :</b>	Route des Indes.....	3
<b>Figure 2 :</b>	Parties du Poivrier.....	4
<b>Figure 3 :</b>	Coupe transversale d'une baie de <i>Piper nigrum</i> L.....	4
<b>Figure 4 :</b>	Fruit du poivrier <i>Piper nigrum</i> L.....	5
<b>Figure 5 :</b>	Répartition des cultures du poivre noir.....	6
<b>Figure 6 :</b>	Différentes étapes de maturité des fruits du <i>piper nigrum</i> L.....	6
<b>Figure 7 :</b>	Montage Soxhlet avec double bypass.....	12
<b>Figure 8 :</b>	Détermination du pH.....	15
<b>Figure 9 :</b>	Evaluation de l'humidité par le montage de 'Dean Stark' .....	15
<b>Figure 10 :</b>	Evaluation de l'humidité par la pesée.....	15
<b>Figure 11 :</b>	Mesure du taux de cendres.....	16
<b>Figure 12 :</b>	Estimation des matières étrangères.....	16
<b>Figure 13 :</b>	Estimation des cendres soluble dans l'acide.....	16
<b>Figure 14 :</b>	Révélation par solution d'iode.....	17
<b>Figure 15 :</b>	Révélation par flottaison.....	17
<b>Figure 16 :</b>	Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide.....	17
<b>Figure 17 :</b>	Détermination de l'extrait soluble dans l'alcool.....	18
<b>Figure 18 :</b>	Détermination de l'extrait non volatil d'éther.....	18
<b>Figure 19 :</b>	Préparation pour la courbe d'étalonnage pour UV-vis.....	19
<b>Figure 20 :</b>	Protocole d'analyse dans l'UV-vis.....	20
<b>Figure 21 :</b>	Protocole d'analyse par IR.....	21
<b>Figure 22 :</b>	Présentation du pH en fonction des échantillons.....	29
<b>Figure 23 :</b>	Présentation de la teneur en cendres (%) en fonction des échantillons.....	29
<b>Figure 24 :</b>	Diagramme en colonne de la teneur en baies légères et en matières étrangères (%) en fonction des échantillons.....	30
<b>Figure 25 :</b>	Construction d'un modèle.....	30
<b>Figure 26 :</b>	Choix de la méthode d'analyse (Loi de Beer-Lambert).....	35
<b>Figure 27 :</b>	Indexation du composé de l'unité de mesure et des limites d'analyses.....	36
<b>Figure 28 :</b>	Insertion des spectres pour une calibration.....	36

<b>Figure 29 :</b>	Fixation d'une fréquence et d'une ligne de base.....	37
<b>Figure 30 :</b>	Résultats d'une calibration.....	37
<b>Figure 31 :</b>	Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant.....	37
<b>Figure 32 :</b>	Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, absorbance sélectionnée à 1671 $\text{cm}^{-1}$ .....	38
<b>Figure 33 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide salicylique à 1671 $\text{cm}^{-1}$ .....	38
<b>Figure 34 :</b>	Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, Absorbance sélectionnée à 1486 $\text{cm}^{-1}$ .....	39
<b>Figure 35 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant à 1486 $\text{cm}^{-1}$ .....	40
<b>Figure 36 :</b>	Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, Absorbance sélectionnée a 2361 $\text{cm}^{-1}$ .....	41
<b>Figure 37 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide salicylique obtenue à 2361 $\text{cm}^{-1}$ .....	41
<b>Figure 38 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide salicylique dilué à 1610 $\text{cm}^{-1}$ ...	42
<b>Figure 39 :</b>	Droite d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans un le solvant à 1610 $\text{cm}^{-1}$ .....	42
<b>Figure 40 :</b>	Spectre ATR d'un échantillon réel de poivre noir.....	43
<b>Figure 41 :</b>	Choix de la méthode.....	47
<b>Figure 42 :</b>	Indexation des composés de l'unité de mesure et les limites d'analyse.....	47
<b>Figure 43 :</b>	Introduction des spectres de calibration et de validation.....	48
<b>Figure 44 :</b>	Choix des régions spectrales.....	48
<b>Figure 45 :</b>	Optimisation des facteurs LV.....	49
<b>Figure 46 :</b>	Analyse de l'acide vanillique par IRTF en utilisant la calibration PLS.....	49
<b>Figure 47 :</b>	Analyse de l'acide Vanillique par IRTF en utilisant la Cross-Validation PLS.....	50
<b>Figure 48 :</b>	Spectre ATR de l'échantillon PNM_EO.....	54
<b>Figure 49 :</b>	Spectre ATR de l'échantillon PNM_EA.....	54
<b>Figure 50 :</b>	Spectre ATR de l'échantillon PNM_A.....	54

## Liste des tableaux

Figure	Titre	Page
<b>Tableau 1 :</b>	Méthodes d'extractions.....	12
<b>Tableau 2 :</b>	Critères et analyses physico-chimiques du poivre noir.....	14
<b>Tableau 3 :</b>	Analyses spectroscopiques et conditions.....	20
<b>Tableau 4 :</b>	Analyses chromatographiques.....	21
<b>Tableau 5 :</b>	Compositions chimique du poivre noir.....	22
<b>Tableau 6 :</b>	Constituants volatils d'un extrait de poivre noir analysé par CPG	23
<b>Tableau 7 :</b>	Les différentes classes de composés présents dans les huiles essentielles de poivre noir	24
<b>Tableau 8 :</b>	Principaux pipéramides du poivre noir et du poivre blanc.....	24
<b>Tableau 9 :</b>	Informations sur la pipérine et ces isomères.....	26
<b>Tableau 10 :</b>	Adultérant et leurs analyses.....	27
<b>Tableau 11 :</b>	Indexation et états des échantillons traités.....	27
<b>Tableau 12 :</b>	Résultats des analyses physico-chimiques.....	28
<b>Tableau 13 :</b>	Interprétation des absorbance sélectionnée de l'acide salicylique.....	38
<b>Tableau 14 :</b>	Paramètres analytiques obtenu à 1671 cm <sup>-1</sup> .....	39
<b>Tableau 15 :</b>	Paramètres analytiques obtenu à 1486 cm <sup>-1</sup> .....	40
<b>Tableau 16 :</b>	Paramètres analytiques obtenu à 2361 cm <sup>-1</sup> .....	41
<b>Tableau 17 :</b>	Paramètres analytiques de l'acide salicylique obtenus à 1610 cm <sup>-1</sup>	43
<b>Tableau 18 :</b>	Concentration de l'acide salicylique de différentes bandes, pour le poivre noir.	44
<b>Tableau 19 :</b>	Composition des solutions étalons à 10 mg mL <sup>-1</sup> (matrice de calibration) .....	46
<b>Tableau 20 :</b>	Concentration des composées de validation	46
<b>Tableau 21 :</b>	Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide p-hydroxybenzoïque.....	50
<b>Tableau 22 :</b>	Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide salicylique.....	51
<b>Tableau 23 :</b>	Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide Vanillique.....	51
<b>Tableau 24 :</b>	Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration avec un design de 3 <sup>2</sup> .....	52

<b>Tableau 25 :</b> Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination de la calibration et de prédiction de l'acide p-hydroxybenzoïque.....	52
<b>Tableau 26 :</b> modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration, de la cross-validation et de prédiction de l'acide salicylique.....	53
<b>Tableau 27 :</b> modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration, de la cross-validation et de prédiction de l'acide Vanillique.....	53
<b>Tableau 28 :</b> Analyse des échantillons réels par prédiction externe.....	55
<b>Tableau 29 :</b> Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration ciblée et de la prédiction des échantillons réels.....	55
<b>Tableau 30 :</b> Analyse des échantillons réels par calibration ciblée.....	56
<b>Tableau 31 :</b> Comparaison entre analyse par prédiction externe et calibration ciblé.....	56

## Liste des abréviations

<u>Abréviation</u>	<u>Signification</u>
€	Euro
\$	Dollar
ISO	International Organization for Standardization (Organisation internationale de normalisation)
%	Pourcentage
JC	Jésus Christ
°C	Degré Celsius
Bar	Unité de mesure de la pression
g	Gramme
mg	Milligramme
µg	Microgramme
UICPA	Union internationale de chimie pure et appliquée
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
h	Heure
min	Minute
W	Watt
Hz	Hertz
k	Kilo
J	Joule
nm	Nanomètre
ASD	Alcool Spécialement Dénaturé
mL	Millilitre
rpm	Revolution per minute (tour par minute)
cm	Centimètre
ATR	Réflectance Total Atténuée
NIR	Near infrared (infrarouge proche)
MIR	Mid infrared (infrarouge moyen)
IR	Infrared (infrarouge)
UV-vis	Ultraviolet-visible
CCM	Chromatographie sur couche mince
HPLC	High-performance liquid chromatography (chromatographie liquide haute performance)

## **Introduction générale**

Les épices ont depuis toujours été recherchées pour le plaisir des sens olfactifs et gustatifs que pour leurs effets thérapeutiques. A son origine le mot "épices" désignait les produits exotiques venus des pays lointains par voie maritime ou par les caravanes de la "route des épices". Leur utilisation était surtout médicinale et accessoirement culinaire. Jusqu'au 18<sup>ème</sup> siècle ils étaient pour leur vertu à faciliter la digestion. Les épices étaient alors classées en degré de chaleur. La préférence pour les épices venues d'ailleurs venait du fait que le climat tropical de leur pays d'origine était supposé leur conférer une supériorité thérapeutique. Le poivre par exemple était préconisé pour « ouvrir l'appétit, guérir les fièvres intermittentes » [1].

Indissociable du sel à table, nous le connaissons pour sa saveur piquante et aromatique, ainsi que pour son pouvoir releveur de goût, le roi des épices mondialement connu et longtemps convoité dans le passé, révèlent de multiples vertus autres que gustatives, c'est le poivre noir [2].

Originnaire d'Inde, ils l'utilisaient dans la médecine traditionnelle comme anti-inflammatoire, stimulant des fonctions digestives, et comme aphrodisiaque [2].

La consommation mondiale augmente chaque année ainsi que le prix, ce qui rend cette épice cible de fraude à des fins économiques, par l'ajout de matières moins chères les plus communes sont l'ajout de grains de papaye, sarrasin et les baies de genièvre [2]. En Algérie c'est le ciment et la semoule fine, qui sont les plus utilisés pour augmenter le poids du produit [2]. Pour avoir un aperçu préliminaire sur l'adultération, des méthodes physico-chimiques qui comportent plusieurs analyses, on peut citer le taux d'humidité, taux de cendre et les cendres solubles dans l'acide sont sollicitées. Aussi les techniques chromatographiques comme la chromatographie en couche mince (CCM) et la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) en phase inverse sont appelées pour contribuer à déterminer et identifier avec certitude la nature chimique des adultérants. Les techniques spectroscopiques telles qu'UV-visible et Infrarouge NIR et MIR sont peu utilisées pour effectuer des analyses qualitative ou quantitative sur le poivre noir. La combinaison de toutes ces analyses peut parvenir à établir des résultats fiables en accord avec les recommandations de l'organisation mondiale de normalisation ISO [3].

Le but principal de ce mémoire est d'utiliser la spectroscopie IRTF en mode ATR pour effectuer une simulation dans le but d'étudier l'adultération du poivre noir par les grignons d'olives.

Ce mémoire comporte une introduction générale, deux chapitres le premier est une revue sur le poivre noir, le deuxième est une simulation dans le but de déterminer des acides phénoliques présents dans les grignons d'olives par IRTF -ATR en utilisant des logiciels Intégrés à l'appareil 'Omnic' et 'TQ Analyst'. Ce qui peut constituer un indicateur de fraude et de falsification du poivre noir par cet adultérant. Enfin, une conclusion générale vient terminer cette étude.

# **CHAPITRE I**

## **Revue bibliographique**

## I.1 Historique

Les preuves archéologiques de personnes utilisant du poivre remontent à au moins 2000 avant JC en Inde. Des signes d'un ancien commerce du poivre de l'Inde à l'Égypte ont été trouvés, y compris les grains de poivre qui avaient été fourrés dans les narines de Ramsès le Grand vers 1200 avant JC lors de sa momification. En 40 après JC, les Romains ont apporté du poivre à leur grand centre commercial à Alexandrie. Lorsque Rome a été attaquée en 410 après JC, pour lever le siège des Wisigoths et empêcher la ville d'être pillée, les Romains ont payé trois mille livres de poivre, la ville éternelle a été saccagée. Avec la chute du pouvoir impérial de Rome, d'autres groupes ont commencé à prendre le contrôle du commerce des épices. Sous l'influence unificatrice de l'islam, les Arabes se sont organisés en une force dominante dans le commerce du poivre, pour maintenir leur monopole, garder leur source secrète et augmenter le prix de cette épice très prisée, les commerçants arabes ont créé le mythe fantastique selon lequel le poivre était cultivé, à mesure que la demande de poivre augmentait, son commerce augmentait également. Au 10ème siècle, le poivre était devenu important dans toute l'Europe, et il est rapporté que le roi anglais Ethelred II (978-1016) a exigé 10 livres de poivre des commerçants d'épices allemands avant de les laisser faire des affaires à Londres [4].

Au Moyen Âge, de nombreux autres groupes de gens de mer avaient rejoint le commerce des épices. Au 14e siècle, Gênes était devenue un important centre commercial où le poivre était sa principale marchandise. Les marchands d'épices d'Alexandrie ont également amené du poivre à Venise et, à la fin du XVe siècle, plus de 400 tonnes chaque année. D'autres sources importantes de poivre proviennent de Constantinople, de Chypre, de la Syrie et d'autres ports du Levant. En 1497, le roi portugais Manuel envoya Vasco da Gama pour trouver la route maritime vers l'Inde dans le but de trouver des «chrétiens et des épices». À la fin du XVe siècle après JC, les Portugais reprirent le commerce des épices. Une grande partie de son prix sur les marchés européens provenait du nombre d'intermédiaires requis pour amener le poivre d'Orient aux tables de l'Europe, les Portugais n'ont pas exercé d'autorité politique et militaire dans les régions où le poivre était produit et, au cours du XVIe siècle, ont lentement perdu le contrôle de son commerce. Au cours du XVIIe siècle, les Hollandais sont devenus le principal acteur du commerce des épices avec les colonies de Bantam, Ceylan, Java, Lampong et Malabar, trouvé par Marco Polo au 13ème siècle. Au fur et à mesure que l'Empire britannique prenait de l'importance dans les tropiques, il a finalement pris le contrôle du commerce des épices avec des groupes commerciaux comme la British East India Company, soutenue par ses forces armées dominantes [4].

Aujourd'hui, le Vietnam est devenu le leader mondial de la production de poivre. Pour 2013, elle a exporté entre 130 000 et 135 000 tonnes de poivre pour une valeur d'environ 900 000 000 \$. En 2019 le prix varie entre 1500 et 3000 € la tonne [4].



Figure 1 : Route des Indes [5].

## I.2 Classification Botanique

La classification botanique de *Piper nigrum* selon **Hendrik Adriaan Van Reed Tot Drakestein 1753**, est basée sur des critères anatomiques et morphologiques [6].

- Règne : *Plantae*
- Sous-Règne : *Viridaeplantae*
- Infra-Règne : *Streptophyta John, Williamson & Guiry, 2011*
- Classe : *Equisetopsida C.Agardh, 1825*
- Clade : *Tracheophyta Sinnott ex Cavalier-Smith, 1998*
- Clade : *Spermatophyta*
- Sous-Classe : *Magnoliidae Novák ex Takht., 1967*
- Super-Ordre : *Magnolianaes Takht., 1967*
- Ordre : *Piperiales Bercht. & J.Presl, 1820*
- Famille : *Piperaceae Giseke, 1792*
- Sous-Famille : *Piperoideae Arn., 1832*
- Genre : *Piper L., 1753*
- Espèce : *Piper nigrum L., 1753*

Le nom vernaculaire du poivre noir : Felfel asouad (en arabe), Black pepper (en anglais).

### I.3 Description du *Piper nigrum* L

*Piper Nigrum* est une liane persistante grimpante des sous-bois tropicaux à tige ligneuse qui peut atteindre des longueurs de plusieurs de dizaines mètres de long. Chaque nœud porte trois racines crampons qui s’ancrent solidement dans la mousse et les troncs pour nourrir la plante. Ses feuilles alternes et épaisses d’une longueur de 10 cm environ sont vert foncé, ovales, cordiformes, coriaces et nervurées. En période estivale, de petites fleurs blanches se présentent en épis à l’opposé des feuilles. Une floraison qui laisse place par la suite à des fruits qui mette plusieurs semaines à mûrir, sphériques contenant chacun une unique graine. Le poivre issu de ces baies peut être vert, les grains passent à l’orange puis au rouge en fonction de leur maturité au moment de la récolte [7,8].

### I.4 Caractères végétatifs

#### ❖ Légende

- 1-Rameau avec ses feuilles épis fructifères.
- 2-Baie verte.
- 3-Coupe transversale d’une baie verte.
- 4-Fragment d’un épi vert, montrant 3 fleurs bisexuées.
- 5-Fragment d’un épi mûr.
- 6-Baie mûre.
- 7-Coupe transversale d’une baie mûre [2].

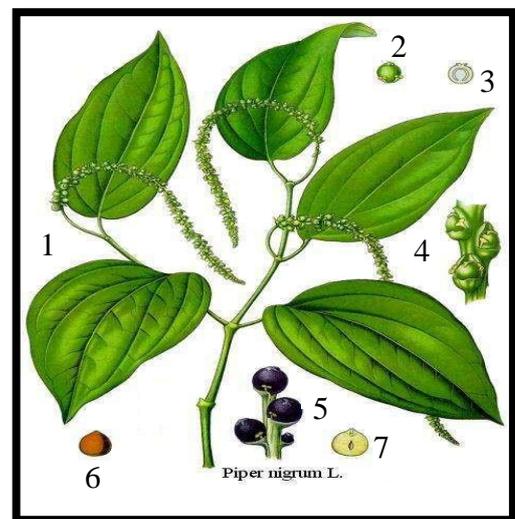


Figure 2 : Parties du Poivrier [9].

### I.5 Le fruit

L’ovaire devient un fruit qui est une baie sphérique de trois à huit millimètres, d’abord verte puis rouge à maturité. La baie renferme une seule graine (baie monosperme) formée par un embryon droit, un endosperme réduit et un important péricarpe [10].

#### ❖ Légende

- 1- Epicarpe
- 2- Mésocarpe interne
- 3- Mésocarpe externe
- 4- Faisceaux libéro-ligneux
- 5- Endocarpe
- 6- Pseudo-pédoncule
- 7- Endosperme Péricarpe
- 8- Embryon à deux cotylédons
- 9- Péricarpe

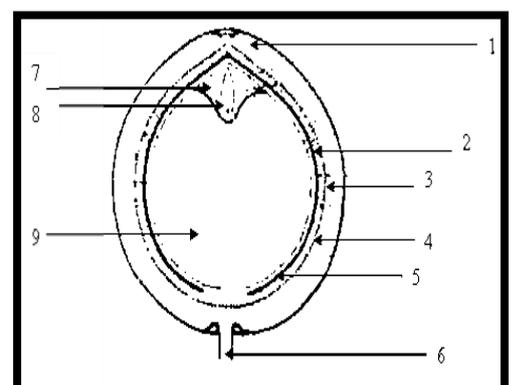


Figure 3 : Coupe transversale d’une baie de *Piper nigrum* L [10].

### **I.6 Partie utilisée de la plante**

Le fruit est commercialisé entier, concassé ou moulu. Le fruit est distillé pour l'obtention de l'HE. Le poivre vert, noir et blanc proviennent de la même plante. Le poivre vert est la baie entière cueillie verte, très aromatique. Le poivre blanc est le fruit cueilli à pleine maturité débarrassé de son enveloppe (péricarpe) puis séché. Le poivre noir est obtenu à partir des baies mures séchées [11].



**Figure 4** : Fruit du poivrier *Piper nigrum L* [11,12].

### **I.7 Culture du poivre noir**

La culture du poivre noir passe par les étapes suivantes :

Il est récolté tout juste avant sa maturité, lorsque les baies de poivre sont passées d'une teinte verte à une teinte jaune. Elles seront ensuite séchées pendant plusieurs jours, au soleil la journée et recouvertes la nuit de sacs de jute et de bâches, pour les préserver de l'humidité. C'est pendant la nuit que la fermentation du poivre noir s'opère, ce qui va lui donner progressivement sa texture fripée et sa teinte brun noir. Il sera ensuite lavé, trié et séché une seconde fois rapidement pour éviter un taux d'humidité trop élevé. Il existe une autre méthode qui consiste à tremper quelques minutes dans l'eau chaude le poivre pour concentrer les arômes, avant de procéder au séchage/fermentation puis au tri [13].

Vient ensuite le mode de conservation du poivre, des épices mal stockées, exposées à l'air, à la lumière et à la chaleur, n'ont jamais fait bon ménage avec la conservation des arômes. Cela donne plutôt des poivres éventés, passés... voire même irritants. Une boîte, un sceau hermétique, en métal ou en matière de norme alimentaire, des sacs parfaitement étanches et opaques feront de bons emballages. Le top en matière de conservation, restera toujours le sous vide entreposé à l'abri de la lumière et de la chaleur. Plus le marchand aura gardé en stock le poivre que vous allez acquérir, plus il aura perdu de ses qualités organoleptiques [13].

## I.8. Distribution et production

Le poivrier noir est une plante vivace non rustique qui subit très difficilement les températures inférieures à 15°C et qui périt en dessous de 5°C. Il se cultive donc en pot et sous serre chaude. Une forte hygrométrie est nécessaire afin de reproduire les conditions climatiques de son environnement naturel [7]. Il prospère idéalement dans une zone géographique située entre le 15ème degré de latitude Nord et le 15ème degré de latitude Sud. Il peut être rencontré aussi en climat tropical mais à saison sèche plus ou moins marquée [14]. Des statistiques de 2008, 2010 et 2014 indiquent que le Vietnam produit 34% de la production mondiale (98 500 tonnes/ans). Il est suivi de l'Inde (19%, 50 000 tonnes/ans), du Brésil (13%, 35 000 tonnes/ans), de l'Indonésie (9%, 25 000 tonnes/ans), de la Malaisie (8%, 20 000 tonnes/ans), de la Chine (7%), du Sri Lanka (6%) et de la Thaïlande (4%) [14].



**Figure 5 :** Répartition des cultures du poivre noir [15].

## I.9. Type de poivre

Le *piper nigrum* peut être consommé sous quatre formes selon sa maturité, il y a le vert le noir, rouge et le blanc.



**Figure 6 :** Différentes étapes de maturité des fruits du *piper nigrum L* [16].

- a) **Poivre vert** : est récolté environ deux mois avant la maturité lorsque le périsperme ou albumen externe ne s'est pas encore formé et que ses cellules sont dépourvues d'amidon. C'est à ce stade qu'on trouve le meilleur produit. Il peut être commercialisé sous forme lyophilisée ou en saumure ou en solution vinaigrée [17].
- b) **Poivre noir** : est obtenu à partir de baies encore vertes, quand certaines sur l'épi virent un peu sur le jaune. Egrenées à la main ou à la machine, parfois blanchies quelques minutes dans l'eau bouillante, les baies seront séchées dans des séchoirs ou à l'air libre jusqu'à l'obtention d'une teneur en eau inférieure à 12%. Elles noirciront et se rideront. Chez les petits producteurs, les grains sont souvent étalés sur une bâche étendue au soleil à même le sol et le séchage dure de l'ordre de 4 à 5 jours. Chez les gros exploitants, on utilise des séchoirs à air chaud, alimentés par du bois, mais souvent sans contrôle de la température [17].
- c) **Poivre rouge** : peu existant actuellement sur le marché. Pour sa préparation, on procède comme pour le poivre noir, mais avec des baies arrivées à complète maturité, c'est-à-dire bien rouges sur l'épi récolté mur, soit de couleur rouge-orangé. Il est ensuite séché de préférence à l'ombre pour qu'il garde sa couleur rouge sombre [17].
- d) **Poivre blanc** : est obtenu à partir de baies rouges récoltées à maturité, égrenées et placées dans des sacs de jutes que l'on laisse tremper environ une semaine dans un courant d'eau froide. Ces baies considérablement ramollies sont râpées ou piétinées entre deux tapis de coco pour éliminer la partie charnue des baies jusqu'à faire apparaître la zone des faisceaux libéro-ligneux. Après séchage, le grain de poivre blanc aura une couleur crème et une forme ronde [17].

## **I.10 Propriétés thérapeutiques**

Plusieurs études ont été faites sur le poivre noir, qui indique qu'il présente des activités et des propriétés thérapeutiques intéressantes, comme suit :

### **a) Activité anti-oxydante**

Effet hépato protecteur par des tests *in vivo* et *in vitro* qui montrent la réduction de la peroxydation des lipides. Il joue un rôle de chimio protecteur en améliorant la biotransformation des enzymes du foie, entre autre des effets simultanés sur les enzymes digestive ainsi que sur le pancréas, les intestins et les sécrétions de l'acide biliaire [18,19].

**b) Activité anti cancer anti-tumorale**

Cette activité est due à ses propriétés immuno-modulatrices, notamment l'activation de réponses immunitaires cellulaires et humorales, en diminuant les métastases pulmonaires induites par les cellules de mélanome par l'activation d'enzymes de protection antioxydants et la peroxydation lipidique modulatrice, il a également été démontré qu'il présente une inhibition de l'angiogenèse induite par les cellules cancéreuses du sein *in vivo*. Le traitement diminuait remarquablement la croissance tumorale dépendante des androgènes [20,21].

**c) Activité anti-inflammatoire**

Les extraits d'hexane et d'éthanol du poivre noir, ont révélé une activité analgésique et anti-inflammatoire remarquable, comme un agent anti-inflammatoire gastro-intestinal utile, et agit comme inhibiteur profond des inflammations des voies respiratoires pour les asthmatique [22].

**d) Bio-amplificateurs**

Il a pour rôle d'améliorer l'absorption des médicaments à travers la barrière intestinale, et en combinaison avec les médicaments, il peut améliorer l'activité des molécules [23].

**e) Anti-diarrhéique et action sur le système digestif**

Le poivre noir peut favoriser le bon fonctionnement de l'estomac, plus précisément en stimulant la libération d'enzymes dans le pancréas et les intestins qui aident à digérer les graisses et les glucides [24].

Les études montrent que le poivre noir peut également prévenir la diarrhée en inhibant les spasmes musculaires dans votre tube digestif et en ralentissant la digestion des aliments, en fait, des études sur des cellules intestinales ont révélé que la pipérine à de faibles doses était comparable aux médicaments anti-diarrhéiques courant, pour prévenir les contractions intestinales spontanées [25].

En raison de ses effets positifs sur la fonction gastrique, le poivre noir peut être utile pour les personnes souffrant de mauvaise digestion et de diarrhée [26].

### **I.11 Utilisation gastronomique**

Le poivre est mondialement connu et largement utilisé en gastronomie. Il fait partie des épices les plus répandues dans le monde, pour relever la saveur des plats salés et aromatiser quelques fois des plats sucrés. [27].

Les poivres noirs doivent être de préférence fraîchement moulus ou concassés (en les écrasant avec un rouleau à pâtisserie ou dans un mortier). En effet, préalablement moulus, ils perdent très rapidement leur arôme. Ces deux types de poivres sont surtout employés pour assaisonner les viandes, poissons, farces, œufs, coquillages et fromages. Ils relèvent le goût de la charcuterie, et des marinades...

Bien que surprenant, cette épice peut servir à la préparation de gâteaux aux fruits, pains d'épices, confitures, gelées de fruits et même des tranches d'ananas revenues dans du beurre et flambées.

Lorsqu'il est conservé dans un endroit frais et sec, la durée de conservation du poivre noir peut aller de deux à trois ans [27].

### **I.12 Utilisation cosmétique**

#### **a) Amélioration de la santé bucco-dentaire**

Certains mélanges de massage contiennent du poivre noir comme l'un des principaux ingrédients. Ces massages soulagent les maux de dents et autres infections buccales, compte tenu des propriétés antibactériennes de la pipérine, aide à traiter l'inflammation des gencives l'utilisation d'un mélange de quantités égales de poivre avec du sel dans de l'eau, est frotter sur la gencive pour soulager les problèmes dentaires. Pour les maux de dents, un mélanger le poivre noir avec de l'huile de clou de girofle et appliquer sur la zone touchée [28].

#### **b) Aide à arrêter de fumer**

Des études ont montré que l'inhalation de la vapeur du poivre noir peut réduire les symptômes de sevrage tabagique. Les envies de fumer ont également été considérablement réduites chez les sujets testés qui ont inhalé de la vapeur de poivre noir [29].

**c) Lutte contre les rides**

Les antioxydants contenus dans le poivre noir combattent les radicaux libres qui provoquent des signes de vieillissement et nuisent à la peau de plusieurs façons, il diminue ainsi les signes du vieillissement prématuré, notamment les rides, les ridules et même les taches brunes.

Une alimentation quotidienne incluant le poivre noir, a des effets améliorant sur la peau, ou bien une application d'un masque, fait d'un mélange combiner de café de poivre noir avec des quantités égales de miel ou de curcuma, dans de l'eau sur plusieurs jours[29].

**d) Exfoliant pour la peau**

Il est utilisé comme un gommage pour exfolier la peau et éliminer les cellules mortes de la peau cela rend la peau plus lisse, la préparation d'un gommage à base de poivre noir écrasé et du yaourt nature, est appliquer sur le visage afin d'éliminer les cellules mortes de la peau et exfolier la peau aidera à éliminer les toxines de la peau, la laissant douce et radieuse. Le poivre noir contribue également à favoriser la circulation sanguine de la peau et grâce à ses propriétés anti-inflammatoires et antibactériennes il aide à prévenir l'acné [29].

**e) Aide au traitement du vitiligo**

Le vitiligo est une affection qui fait perdre à la peau sa pigmentation dans certaines zones ou la peau perd sa pigmentation naturelle est devient blanche. Il existe de nombreux traitements différents pour cette maladie de la peau, mais la majorité d'entre eux impliquent l'utilisation de produits chimiques agressifs. De nombreux patients se tournent maintenant vers le poivre noir comme remède selon des chercheurs de Londres, la pipérine présente dans le poivre noir offre une alternative sûre et naturelle aux traitements à base de produits chimiques [30].

**f) Aide au traitement des pellicules**

Un mélange de poivre noir broyé et de lait caillé est appliqué sur le cuir chevelu, sans utilisation de shampooing, donnera suffisamment de temps au mélange pour travailler sur les pellicules [29].

**g) Revitalisant pour les cheveux**

L'utilisation d'un mélange de graines de citron et de poivre noir moulu sur le cuir chevelu et les cheveux, revitalisera les cheveux, les rendant brillants et doux ou un mélanger de poivre noir en poudre avec des quantités égales de miel et appliquer sur les cheveux aidera à les renforcer les racines des cheveux et peut même aider à prévenir la calvitie [29].

### **I.13 Méthodes d'extractions de la fraction non volatile**

Les méthodes d'extraction de la fraction non volatile peuvent être classiques ou modernes, chacune présentant des conditions différentes et des paramètres variés, qui sont représentés dans le tableau 1.

#### **a) Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

Il consiste à faire circuler du CO<sub>2</sub> à l'état supercritique, en générale à une température et pression de (T= 31 °C, P= 73,8 bar), ce qui en fait un solvant « vert » à travers une matière, ce qui permet d'extraire sélectivement les molécules selon leur nature chimique car il se révèle être un excellent solvant des molécules apolaires ou peu polaires dans les conditions supercritiques puis d'opérer une décompression pour récupérer l'extrait [31].

A la dépressurisation, le CO<sub>2</sub> est libéré sous forme gazeuse et le composé recherché sous forme liquide ou solide. Les faibles températures mises en œuvre (en général de 40 à 60 °C) permettent de conserver l'intégrité chimique des molécules thermosensibles [32].

Le CO<sub>2</sub> supercritique peut voir sa polarité modifiée par l'ajout d'un « dopant » polaire communément appelé Co-solvant permettant ainsi d'augmenter le spectre des molécules extraites par le solvant à l'état supercritique [32].

#### **b) Extraction assistée par Ultrasons**

Les Ultrasons sont des ondes ultrasonores de basse fréquence (20 KHz) avec une puissance élevée qui transforme l'énergie électrique en vibrations mécaniques, sous forme de solvant de micro bulle d'air ils assurent ainsi une pénétration du solvant dans les entrailles des cellules. Les bulles grandissent pour exploser et permettre la libération des composés dans le solvant [33].

#### **c) Extraction assistée par Microondes**

L'extraction assistée par micro-ondes implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière, le chauffage par micro-ondes d'une matière est causé par la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de la matière, ce transfert d'énergie particulier induit un transfert de matière lui aussi particulier et dont les mécanismes diffèrent notablement de ceux de l'extraction solide-liquide traditionnelle.

Les durées des procédés d'extraction assistée par micro-ondes sont en effet de l'ordre de quelques minutes, quant aux rendements la plupart du temps sont comparables à ceux obtenus par les procédés traditionnels d'extraction. Lorsqu'ils sont inférieurs, il s'agit le plus souvent d'une manifestation de la sélectivité du procédé, conduisant à une plus grande pureté des extraits [34].

**d) Extraction enzymatique assisté par surfactant**

Cette méthode consiste à utiliser la capacité des enzymes à dégrader le poly-disaccharide et la capacité du surfactant a abaissé la tension superficielle, pour faciliter la pénétration du solvant et la diffusion des composés emprisonnés dans l'échantillon [35].

**e) Extraction par Soxhlet**

L'extraction par Soxhlet nécessite qu'une quantité minimale de solvant, le principe est que la matière est répétitivement mise en contact avec les parties fraîches du solvant grâce au phénomène du siphonage, aidant ainsi à déplacer l'équilibre de transfert et aucune filtration n'est requise, quant aux double bypass, deux ballons sont requis comme c'est illustrer dans la figure 7 [36].



**Figure 7** : Montage Soxhlet avec double bypass [37].

**Tableau 1** : Méthodes d'extractions.

Type d'extraction	Méthode d'extraction	Conditions optimales	Référence
<b>Moderne</b>	CO <sub>2</sub> Super critique	<b>Pression</b> : 300 bars <b>Température</b> : 60°C <b>Temps</b> : 45 min, <b>Débit</b> : 2 L/min	[38]
	Assistée par Ultrasons	<b>Puissance</b> : 125 W, 80% cycle de service <b>Fréquence</b> : 25 kHz, <b>Température</b> : 50°C	[39]
	Assistée par Microondes	<b>Puissance</b> : 350 W <b>Temps</b> : 90 min, <b>Débit</b> : 84,17 J/min	[40]
	Extraction enzymatique assistée par surfactant	<b>Enzymes</b> : 8mg cellulase, 10 mg protéase neutre <b>Surfactant</b> : 40 mg Stéaryle de sodium lactylé <b>Température et temps</b> : 60°C, 4 h puis 90°C, 5 min <b>Ultrasons</b> : 40 kHz, 90 W, 30 min	[35]

<b>Classique</b>	Soxhlet	<b>Temps d'extraction</b> $22 \pm 1$ h <b>Temps d'un siphonage</b> $16 \pm 1$ min <b>Solvant</b> : éthanol ou isopropanol	[37]
	Double bypass Soxhlet (Figure 7)	<b>Temps d'extraction</b> $12 \pm 1$ h <b>Temps d'un siphonage</b> $8 \pm 1$ min <b>Solvant</b> : éthanol ou isopropanol	[37]

### **II.13.1 Isolation de la pipérine**

On peut procéder de deux manières différentes pour isoler la pipérine.

A) L'extrait est passé dans une HPLC en phase inverse pour séparer les substances et récupérer la pipérine sous les conditions qui sont précisées dans le tableau 4.

B) L'extrait subit une neutralisation des acides gras est composé à caractère acide avec une solution alcoolique d'une base forte de KOH ou NaOH à 10 %, puis procédé à un refroidissement à température ambiante puis passage au réfrigérateur pour au moins 24 H pour former les cristaux de pipérine, et on finit par une recristallisation avec du méthanol ou de l'isopropanol [41].

### **I.14 Méthodes d'analyse**

Afin de vérifier l'authenticité du poivre noir qu'il soit en grains ou en poudre, ISO ainsi que des chercheurs du monde entier, ont élaboré des méthodes d'analyses physico-chimiques et spectroscopiques qui vont faire en sorte d'établir des résultats concrets et fiables pour détecter les différentes adultérations, afin de pouvoir lutter contre les activités frauduleuses qui touchent le poivre noir, les différentes analyses sont indiquées dans ce qui suit :

#### **I.14.1 Analyses physico-chimiques**

Des critères physiques et d'autre chimiques sont établis afin de pouvoir estimer la qualité du poivre noir qu'il soit en grains ou en poudre. Ces normes sont établies par l'organisation mondiale de normalisation ISO qui doit être respectées avant d'arriver aux consommateurs comme le montre le tableau 2.

**Tableau 2 :** Critères et analyses physico-chimiques du poivre noir [42].

<b>Critères physiques</b>	<b>Poivre noir</b>	<b>Type d'analyse</b>	<b>Norme</b>
Taille générale pour les poivres entiers	Diamètre 2,5 à 7,0 mm (environ)	Gravimétrie	CXS 326-2017
Densité apparente (g/l)	500	Densité	ISO 959-1 Annexe B
Baies légères, % (m/m) max.	5,0	Densité	ISO 959-1 Annexe A
Corps végétales étrangers % (m/m) ; max.	2,0	Gravimétrie	ISO 927
Matière étrangères % (en poids), max.	0,5	Gravimétrie/visuel	ISO 927
Insectes mort % (en poids), max.	1,0	Gravimétrie/Visuel	CXS 326-2017
<b>Critères chimiques</b>			
Teneur en eau, % (m/m) max.	12,0	Distillation	ISO 939
Total des cendres, % (m/m) max, sur une base séché.	6,0	Gravimétrie	ISO 928
Extrait étheré non volatile, % (m/m).	7,0	Extraction par Soxhlet	ISO 1108
Teneur en pipérine, % (m/m), sur une base séchée	3,0	Spectrométrie	ISO 5564
Cendres insolubles dans l'acide, % (m/m)	1,5	Gravimétrie	ISO 930

Les échantillons du poivre noir grains ou en poudre doivent passer par des analyses physico-chimiques et obéir aux normes indiquées dans le tableau 4 pour confirmer leur conformité [40], ils se manifestent en :

## a) Détermination du pH (Figure 8)

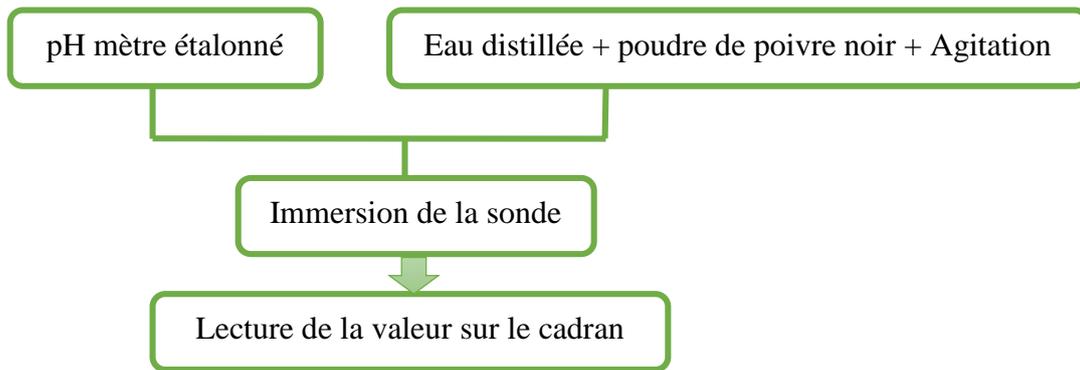


Figure 8 : Détermination de pH [43].

## b) Teneur en humidité : On peut procéder de deux manières différentes comme c'est montré dans les figures 9 et 10.

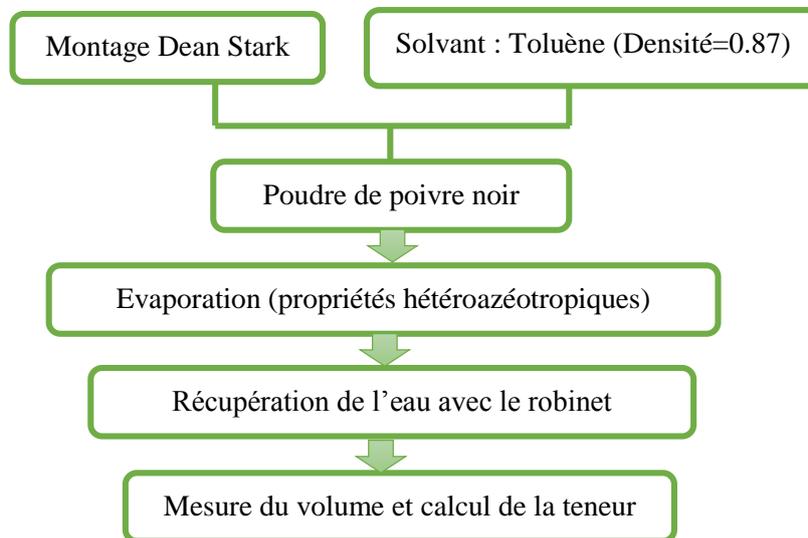


Figure 9 : Evaluation de l'humidité par montage Dean Stark [43].

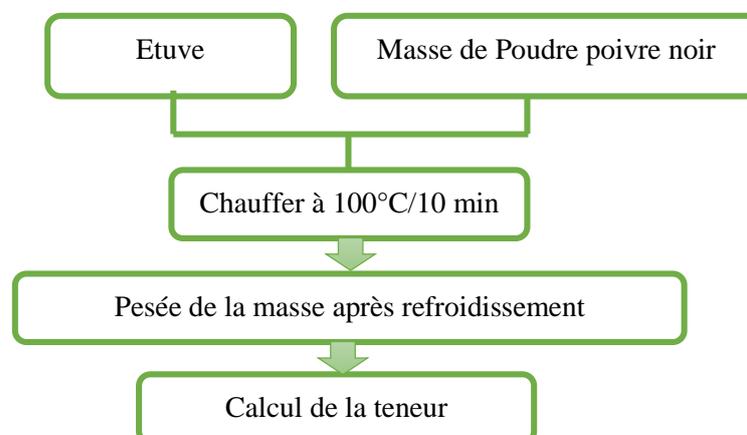
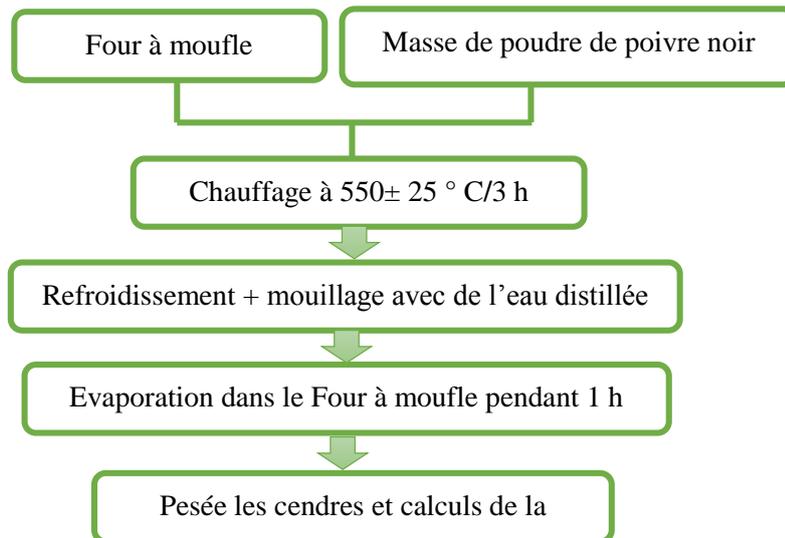


Figure 10 : Evaluation de l'humidité par la pesée [40].

## c) Teneur en cendres (Figure 11)



## d) Matières étrangères (Figure 12)

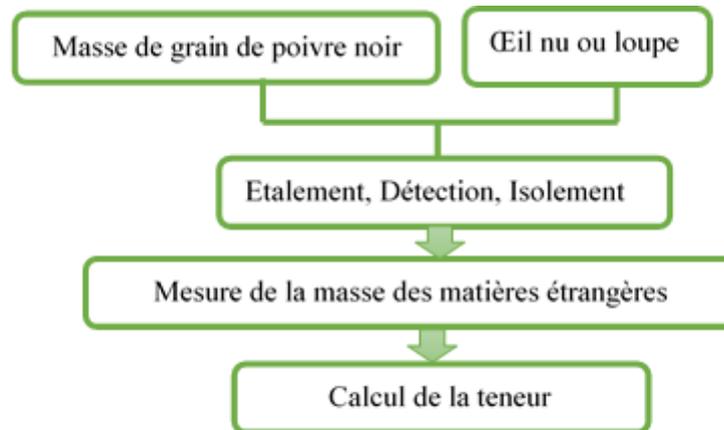


Figure 12 : Estimation des matières étrangères [43].

## e) Cendres insolubles dans l'acide (Figure 13)

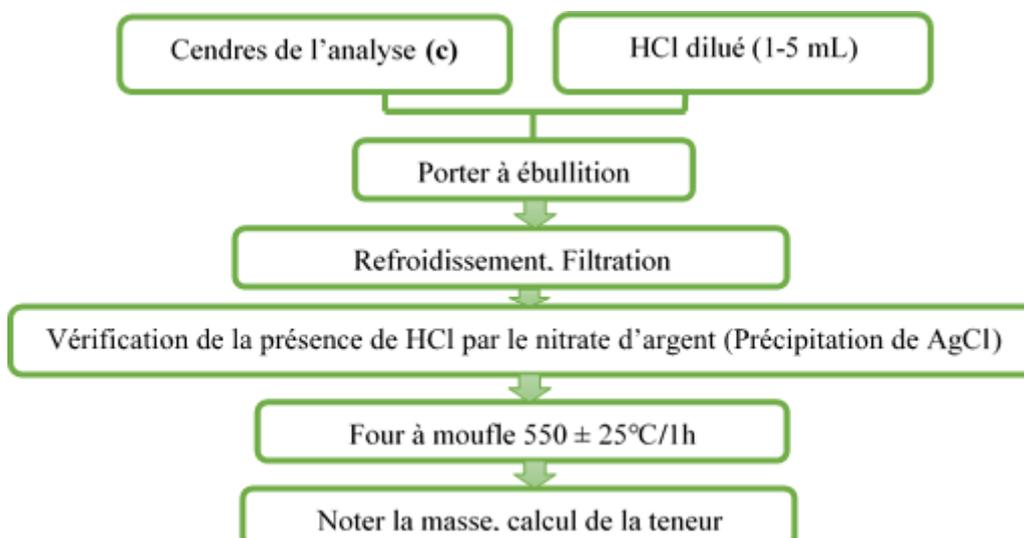
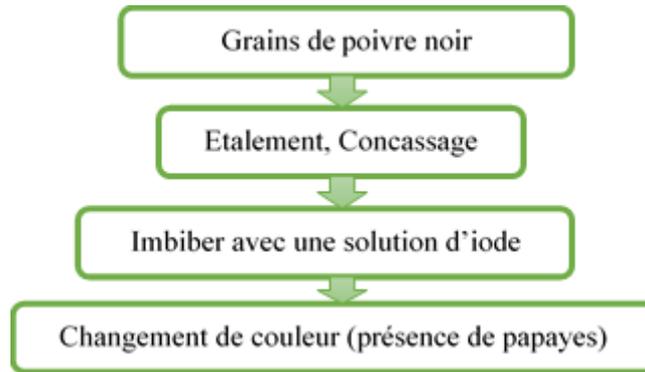
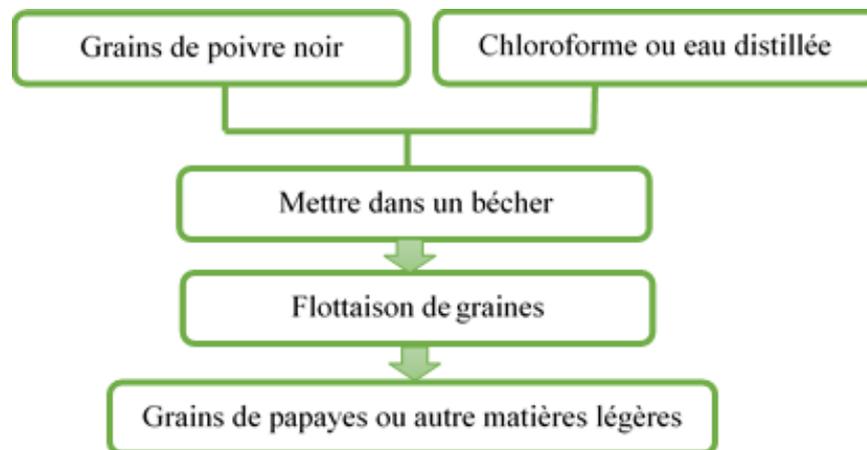


Figure 13 : Estimation des cendres solubles dans l'acide [43].

- f) **Détection de grains de papayes** : On fait appel à l'une des deux procédures districts pour cette analyse soit par révélation chimique ou par flottaison comme c'est expliqué dans les figures 14 et 15.

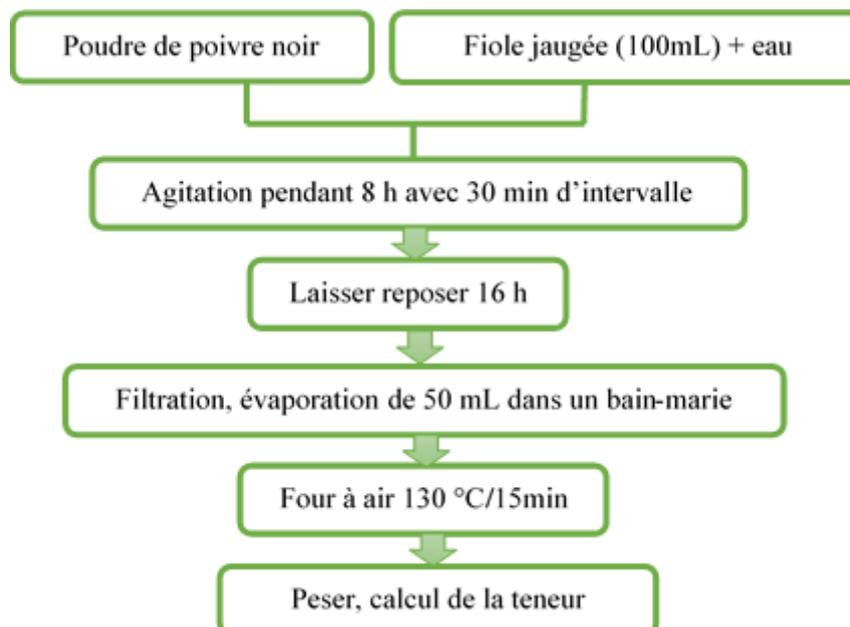


**Figure 14** : Révélation par solution d'iode [43].



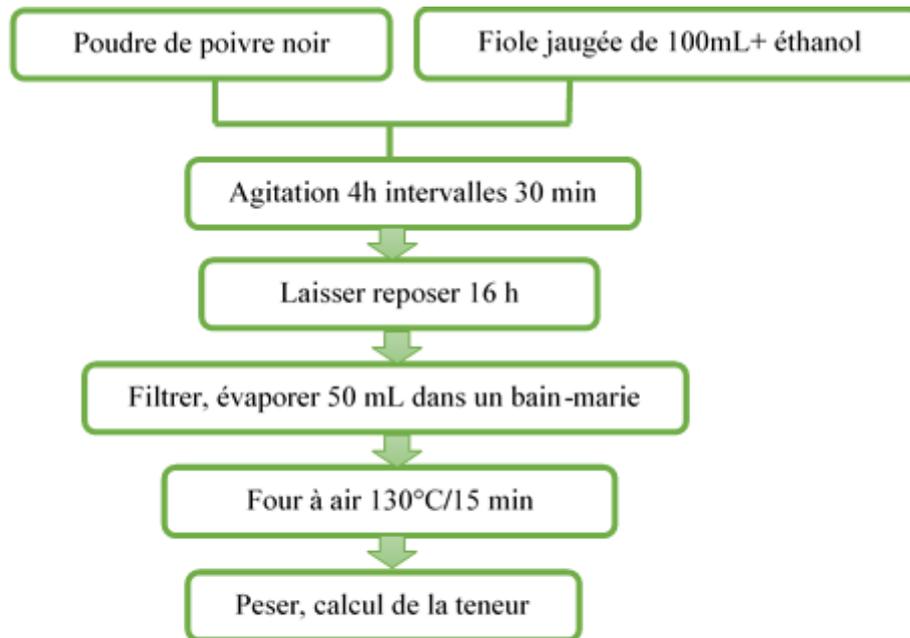
**Figure 15** : Révélation par flottaison [43].

- g) **Extrait soluble dans l'eau froide** (Figure 16)



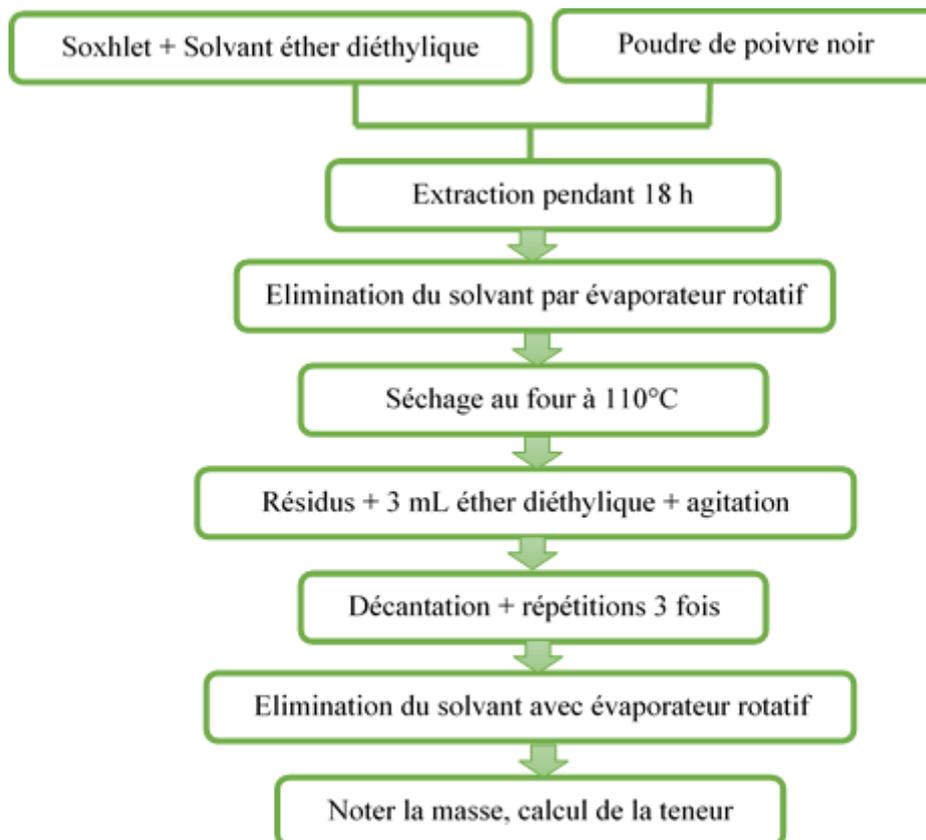
**Figure 16** : Détermination de l'extrait soluble dans l'eau froide [43].

## h) Extrait soluble dans l'alcool :



**Figure 17 :** Détermination de l'extrait soluble dans l'alcool [43].

## i) Extrait non volatil d'éther :



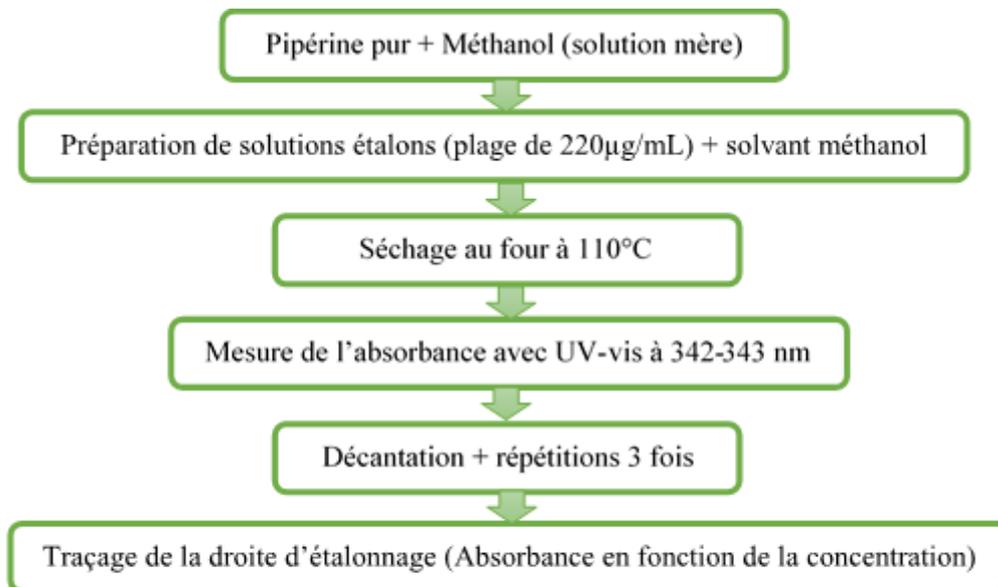
**Figure 18 :** Détermination de l'extrait non volatil d'éther [43].

### I.14.2 Analyse spectroscopique

Différentes méthodes instrumentales ont été utilisées pour l'analyse du poivre noir.

Les méthodes spectroscopiques NIR et MIR-ATR ont été combinés à la chimiométrie pour dépister la substitution du poivre noir par des grains de papaye, du piment et par des matériaux non fonctionnels du poivre noir tels que la cosse, des matières usées dégraissées. Une différenciation entre le poivre noir et les échantillons frelatés a été mise en évidence, en utilisant un modèle binaire de classification avec un ensemble de tests extrêmes [3].

En ce qui concerne l'analyse UV-vis elle est essentiellement utilisée pour la vérification de la pureté du produit isolé qui est la pipérine dans un domaine de 342-345 nm, elle peut aussi servir à détecter les adultérant en faisant des analyses préliminaires. La figure 19 montre l'étape de l'acquisition des données qui permettront le traçage de la droite d'étalonnage afin de pouvoir faire des analyses qualitatives par la suite [44].



**Figure 19** : Protocole suivi pour l'obtention de la droite d'étalonnage [44].

Outres ces analyses physico-chimiques, des méthodes spectroscopiques sont sollicitées afin d'avoir des résultats pertinents et fiables, indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3 : Analyses spectroscopiques et conditions.

Matrice	Technique d'analyse	Conditions Opératoires	Logiciel de traitement/Mode de Détection	Référence
Poivre noir	NIR/MIR-ATR	Broyage à 600 rpm, 5min MIR : 400-4000 $\text{cm}^{-1}$ 32 scans, R= 4 $\text{cm}^{-1}$ NIR : 4000-12000 $\text{cm}^{-1}$ 32 scans, R= 8 $\text{cm}^{-1}$	SIMCA 15 Analyse en composante principale (ACP)	[3]
Pipérine	UV-vis	Longueur d'onde : 342-345 nm Temps : 5min Solvant : Méthanol ou éthanol	Spectrophotomètre Variant UV Logiciel : Carry-100	[44]

#### I.14.2.1 FT-IR

Le grand avantage du FT-IR par rapport à l'analyse d'adultération à partir du poivre noir c'est que l'échantillon ne subit aucun traitement donné comme montre la figure 20.

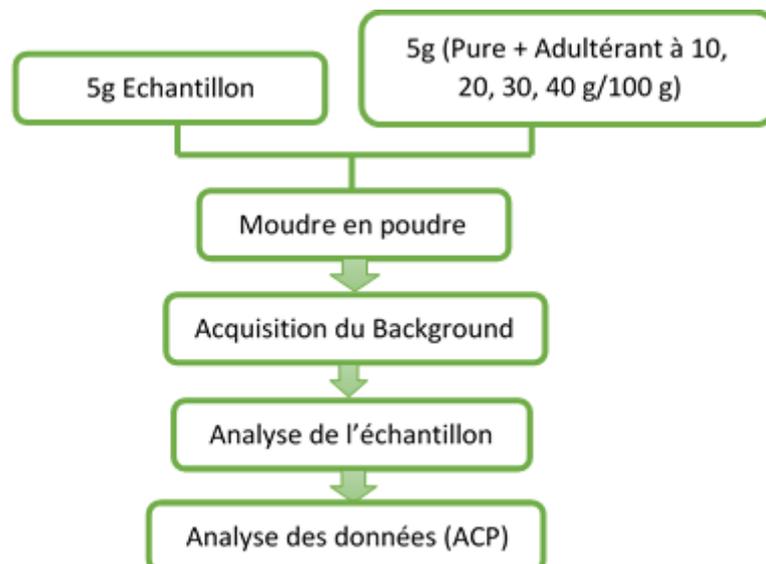
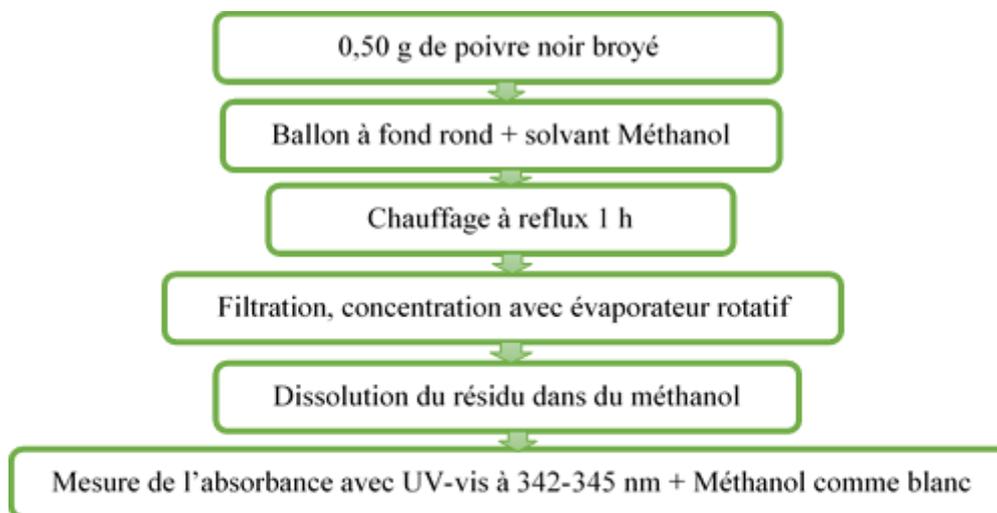


Figure 20 : Protocole d'analyse du poivre noir par IR [3]

### I.14.2.2 UV-visible

Afin de déterminer la teneur de la pipérine dans le poivre noir et vérifier la pureté de l'extrait, on utilise l'UV-vis à une longueur d'onde de 342 à 345 nm pour une absorption maximum comme le montre le diagramme de la figure 21.



**Figure 21** : Préparation d'un échantillon pour une analyse UV-visible [44].

### I.14.2.3 Analyse chromatographique

La HPLC en phase inverse permet de séparer, récupérer et identifier la pipérine dans certaines conditions, il y a aussi la CCM qui peut servir à vérifier la pureté de la pipérine en absence de l'HPLC comme c'est indiqué dans le tableau 4.

**Tableau 4** : Analyses chromatographiques

Type	Conditions	Méthode/Technique de détection	Référence
Chromatographie haute performance en phase liquide (HPLC) (Phase inverse)	<b>colonne</b> : Phenomenex Luna 5 u C18 Phase ou ZORBAX Eclipse XDB-C18 <b>Phase mobile</b> : Eau/Méthanol (77/23) % <b>Débit</b> : 1mL/min, <b>Température</b> isotherme : 27°C	<b>Détecteur</b> : barrettes de photodiode programmable à longueur d'onde variable <b>Logiciel</b> : Class VP série version 6.1	[45]
Chromatographie sur couche mince (CCM)	<b>Phase stationnaire</b> : Gel de silice <b>Système de solvant</b> : Toluène / Acétate d'éthyle (70/30) %	chambre saturée en iode (présence d'une tache à la même hauteur que celle de la pipérine)	[46]

## **I.15 Composition chimique**

### **a) Composition chimique générale**

En général, une quantité de 100 g de poivre noir présente une composition de 4 à 6% de matières minérales, 40 à 50% d'amidon, et 60 à 65% pour le poivre blanc, 5 à 10% de lipides : les lipides présents dans le poivre sont représentés par des acides gras comme l'acide palmitique (16-30%), l'acide oléique (18-29%), l'acide linoléique (25-35%) et l'acide linoléique (8-19%), 10 à 12% de protéines, 5 à 10% de résine et de 1 à 3 % d'huile essentielle [44]. L'huile essentielle des baies comprend des hydrocarbures mono terpènes et des hydrocarbures sesquiterpènes, qui sont en moyenne composés de 3-carène à 20 %  $\beta$ -caryophyllène 10-30 % limonène et  $\beta$ -phellandrène 15-30 %,  $\alpha$ -phellandrène 30 %,  $\alpha$ -pinène et  $\beta$ -pinène 15 %, sabinène 20 %. Les terpènes oxygénés les plus importants sont linalol, terpinène-4-ol,  $\alpha$ -terpinéol [48].

Les tableaux 5-8 donnent les différents constituants et compositions du poivre noir

**Tableau 5** : Composition chimique du poivre noir [49].

<b>Glucides</b>	<b>Lipides</b>	<b>Protéine</b>	<b>Energie</b>	<b>Eau</b>	<b>Fibre</b>
1,361 g	0,068 g	0,230 g	5,355 kcals	0,221 g	0,557 g
<b>Sodium</b>	<b>Potassium</b>	<b>Phosphore</b>	<b>Calcium</b>	<b>Cendre</b>	<b>Zinc</b>
0,924 mg	26,439 mg	3,633 mg	9,177 mg	0,091 g	0,033 mg
<b>Thiamine</b>	<b>Fer</b>	<b>Magnésium</b>	<b>Manganèse</b>	<b>Cuivre</b>	<b>Pyridoxine</b>
0,006 mg	0,606 mg	4,074 mg	0,118 mg	0,024 mg	0,007 mg
<b>Vitamine E</b>	<b>Vitamine C</b>	<b>Vitamine A</b>	<b>Folates</b>	<b>Niacine</b>	
0,022 mg	0,441 mg	0,039 mg	0,210 mg	0,024 mg	

### **b) Composition de la fraction volatile (l'huile essentielle) du poivre noir**

Les teneurs en huiles essentielles varient entre 1,2 et 3,9 % pour les poivres noirs et entre 1 et 3,8 % pour les poivres blancs.

Les compositions des huiles essentielles extraites de poivres noirs, poivres blancs, poivres verts et poivres rouges sont voisines, on y retrouve toujours les mêmes composés [50]. Les différences observées dans la composition aussi bien des huiles essentielles que des oléorésines extraites à partir de ces différents poivres dépendent du cultivar analysé [51].

Ces variations dans la composition des huiles essentielles suivant les cultivars peuvent être attribués à divers paramètres :

**1. Techniques d'extraction :**

Il a été montré que les rendements en huiles essentielles augmentaient avec :

- la température de la vapeur sèche.
- la durée d'entraînement à la vapeur.
  - de faibles variation dans la composition de l'huile essentielle à condition que la température reste inférieure à 175°C. Lorsque l'on dépasse cette température, le rendement s'accroît, mais avec de fortes variations dans la composition de l'huile essentielle, vraisemblablement dues à des dégradations [52].

**2. Nature du cultivar et surtout des lieux de culture.**

**3. Etat de maturité du cultivar** (poivres vert, noir ou rouge). Après séchage, les grains de poivres noirs récoltés à maturité presque complète, ont :

- une humidité qui varie entre 10-12% d'eau,
- une teneur en amidon comprise entre 25 et 45%,
- une teneur en protéine de 11-13%,
- une teneur en fibre de l'ordre de 15%,
- une quantité de cendres, résidus obtenus après combustion, se situant entre 3 et 6%.
- une teneur en huile essentielle (ensemble des composés volatils olfactivement actifs) comprise entre 1 et 3,8% et une quantité de pipérine variant entre 3 et 8% [53].

**4. Type de traitement et mode de séchage.**

**5. La durée de conservation** il a montré qu'au bout d'un an, on observait de faibles variations dans la composition de l'huile essentielle, si le poivre était conservé entier dans des bocaux fermés hermétiquement et placés à l'abri de la lumière. Si le poivre avait été préalablement broyé, on ne récupérerait plus que la moitié de l'huile essentielle dans le cas du poivre vert ou du poivre noir et le quart dans le cas du poivre blanc, sans compter les variations de composition [53].

**Tableau 6 :** Constituants volatils d'un extrait de poivre noir analysé par CPG [53].

$\alpha$ -thujène (1,4%)	$\alpha$ -pinène (7,8%)	Camphène (0,2%)	Sabinène (11,8%)	$\alpha$ -humulène (0,5%)	$\beta$ -pinène (10%)
$\delta$ -3-carène (9,6%)	<i>p</i> -cymène (2%)	Limonène (14,4%)	$\gamma$ -terpinène (0,5%)	$\alpha$ -copaène (0,8%)	Caryophyllène (1,5%)
$\beta$ - caryophyllène (22%)	$\alpha$ - <i>cis</i> - bergamotène (0,5%)	$\beta$ -pinène (10%)	$\beta$ -sélinène (1,5%)	$\beta$ -bisabolène (1,2%)	Nérolidol (0,4%)

**Tableau 7** : Les différentes classes de composés présents dans les huiles essentielles de poivre noir [54].

Composé	Nombre	Teneurs (%)
<b>Hydrocarbures monoterpéniques</b>	23	49,2 à 77,7
<b>Hydrocarbures sequiterpéniques</b>	44	19,8 à 45,1
<b>Alcools</b>	56	2,1 à 6,5
<b>Aldéhydes</b>	8	
<b>Cétones</b>	17	
<b>Esters et lactone</b>	15	
<b>Phénols</b>	10	
<b>Ethers, oxydes et hétérocycles</b>	14	

c) **Composition de La fraction non-volatile de l'oléorésine**

Avec un taux d'humidité avoisinant les 10%, la teneur en oléorésine dans le poivre noir est comprise entre 5 et 15% de l'épice séchée.

Due à beaucoup d'alcaloïdes dont la pipérine qui en est le principal alcaloïde dans la fraction non volatile, dans le poivre noir d'une teneur avoisinant les 3 %, et ses isomères l'isopipérine, la chavicine et l'isochavicine et d'autre composés identifiés tel que pipéryline, la piperlongumine, la pipéranine, la piperdardine et les quatre isomères de la piperettine (I = Z,Z,Z ; II = Z,Z,E ; III = Z,E,Z et IV = Z,E,E), que le poivre noir a une saveur âcre et brûlante qui a un rôle semblable à la capsaïcine, qui active les nerfs de la langue ce qui cause la sensation de pseudo-chaleur pouvant atteindre 100 000 indice de Scoville, et c'est la pipérine qui irrite les terminaison nerveuse du nef causant l'éternuement, comme c'est représentés dans le tableau 7 et 8 [55].

**Tableau 8** : Principaux pipéramides du poivre noir et du poivre blanc [55].

Composé	Teneur (mg/g de poivre)
Pipéryline	0,9 - 4,3
Piperlongumine	0,3 - 1,0
Pipéranine	0,4 - 1,4
Pipérine + isopipérine + chavicine	33,2 - 107,4
Isochavicine	0,3 - 12,7
Pipéradine	0 - 1,8
Piperettine isomer I	0,4 - 2,3
Piperettine isomer II	1,9 - 10,8
Piperettine isomer III	1,1 - 3,1
Piperettine isomer IV	0,9 - 1,7

Tableau 9 : Informations sur la pipérine et ces isomères [56, 44].

Composé	Isochavicine	Chavicine	Isopipérine	Pipérine
Formule Brute	C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>3</sub>			
Nom IUCPA	(2E,4Z)-5-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-1-(1-pipéridinyl)-2,4-pentadién-1-one	(2Z,4Z)-5-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-1-(1-pipéridinyl)-2,4-pentadién-1-one	(2Z,4E)-5-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-1-(1-pipéridinyl)-2,4-pentadién-1-one	(2E,4E)-5-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-1-(1-pipéridinyl)-2,4-pentadién-1-one
Structure				
Point de fusion (°C)	103	75	86	129
Absorption max dans UV (nm)	336	321	335	343

## I.16 Adultération

Le poivre noir est parmi les épices qui jouent un rôle important dans l'import-export et à cause des fortes tensions sur les marchés, il est sujet de fraude notamment sur son poids par l'ajout d'adultérant à des fins économiques tel que les matières moins chères, c'est pour cela que la pureté du poivre noir est vérifiée sur les marchés, et étroitement surveillée par la répression des fraudes, les fraudeurs font toujours preuve d'ingéniosité afin d'éviter d'être démasqués [57].

C'est pour cela que ISO veillent en mettant des normes ainsi que des protocoles d'analyse pour que le poivre noir arrive sans adultération aux consommateurs [57].

« En **Algérie** le poivre noir fait sujet de contrefaçons par des fraudeurs sans foi ni loi qui profitent de la naïveté des acheteurs, en générale par l'ajout de ciment, de la semoule fine ou bien du broyat de sorgho, pour augmenter le poids et ainsi faire plus de profit » [58, 59].

**Tableau 10** : Adultérant et leurs analyses.

<b>Adultérant</b>	<b>Analyse</b>	<b>Référence</b>
Sable, terre, matière granuleuse, oxyde de fer, plastique, ciment	Cendre totaux sur matière sèche, Diffraction de rayon-X (DRX), Fluorescence de rayon-X (XRF)	[51]
<b>Poivre noir en grains</b> Grain de papaye, Sarrasin, baies de genièvre	Microscopique (optique ou électronique)  Matière étrangère	[43]
<b>Poivre noir moulu</b> Piment rouge, poivre de Cayenne, craie, grignon d'olive, semoule fine, sorgho	Spectroscopie UV-vis, FT-IR  Chromatographie : CCM, HPLC	[44, 45, 46, 52,53]

Pour les analyses spectroscopiques et chromatographiques un étalon ou un produit pur doit être passé dans les mêmes conditions d'analyse pour avoir une référence, des mélanges du produit pur et d'adultérant de masse connue sont préparés pour les analyses quantitatives et des résultats plus précis [45,46]. En ce qui concerne la détection des métaux ou métaux de transitions, la DRX ou la XRF sont deux méthodes fiables à la fois qualitativement et quantitativement qui exploitent le rayonnement X pour caractériser plusieurs éléments du tableau périodique.

# **CHAPITRE II**

**Expérimental, Simulation et  
résultats**

## Introduction

Dans ce chapitre on s'intéresse à la partie expérimentale (analyse physico-chimique), ainsi qu'à une simulation de traitement spectrale sur logiciel OMNIC et TQAnalyst, en s'appuyant sur une base de donnée, mise à disposition qui contient des blanc ainsi que des spectres de plusieurs échantillon collecter de composées diverses à différente concentration, pour pouvoir faire des analyses qualitatives et quantitatives, ainsi que des optimisation pour avoir des estimations afin d'établir un plan de validation à l'aide de différentes calibrations monovariée et ciblé, ainsi qu'un traitement de moindres carrée partiel et une validation croisée.

### II.1 Analyse physico-chimique

Sept échantillons sachets commerciaux de poivre noir (3 échantillons en grains, et 4 en poudres) ont subis des analyses physico-chimiques, les résultats présentés dans le tableau 10.

**Tableau 11** : Indexation et états des échantillons traités [60].

<b>Codage d'échantillon</b>	<b>Etat</b>	<b>Masse du sachet (g)</b>
<b>PNG_S</b>	Grains	20
<b>PNM_S</b>	Poudre	30
<b>PNG_EO</b>	Grains	20
<b>PNM_EO</b>	Poudre	20
<b>PNG_EA</b>	Grains	0
<b>PNM_EA</b>	Poudre	20
<b>PNM_A</b>	Poudre	30

#### II.1.1 Analyse physico-chimique

Chaque analyse effectuée est répétée trois fois afin d'avoir une valeur moyenne et vérifié la corrélation des résultats.

a) **pH** : pour ce faire on a utilisé un pH mètre électronique étalonné avec lequel on vient plonger la sonde dans un bécher qui contient 40 mL d'eau distillée et 1g d'échantillon en poudre ou broyer avec un mortier, la valeur est par la suite noté ainsi que celle du sable et du sel iodé.

b) **Teneur en cendres** : 3g de l'échantillon en poudre pesé avec une balance électronique est mis dans un creusé, et introduit dans un four a moufle pendant 3-4 heures à 500-550 °C et réduit en cendre, la masse des cendres est pesé et on calcule la teneur par la suite.

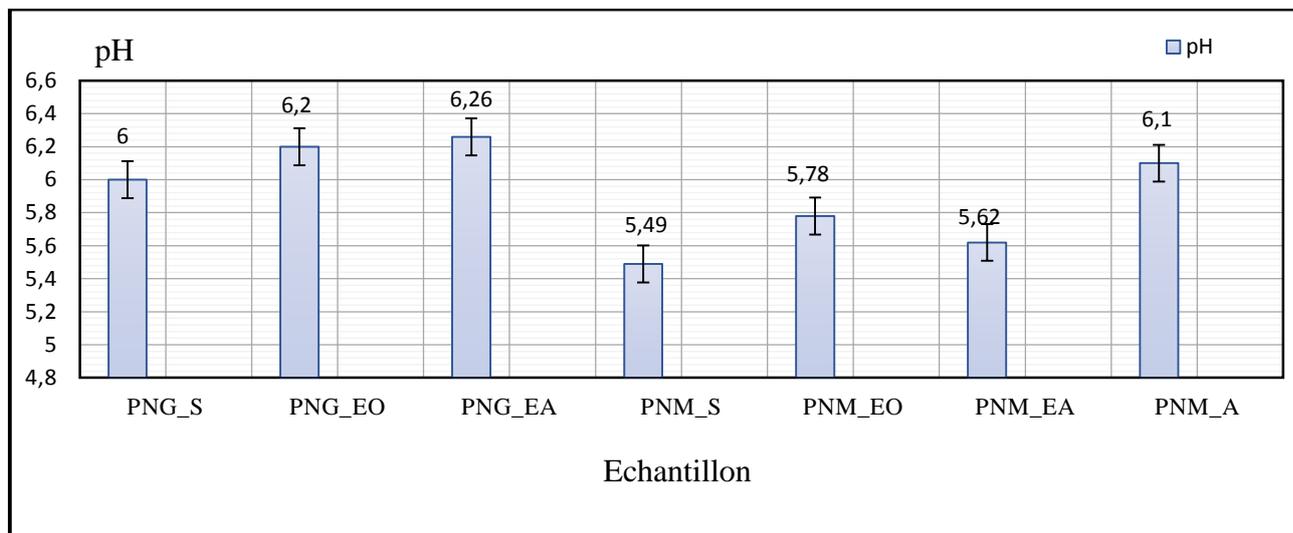
c) **Teneur en baies légères** : une masse de 3g d'échantillon en grains est pesée à l'aide d'une balance électronique et versée dans un bécher de 250 mL remplis d'eau distillée, on récupère les matières flottante on les laisse séché puis on les pèse, afin d'en calculé la teneur.

d) **Teneur de matières étrangères** : après avoir pesé avec une balance électronique 3g d'échantillon en grain, on l'étale sur une surface propre et on prend à la main toutes matières qui ne ressemblent pas à un grain de poivre noir, on le met sur un verre de montre et on le pèse pour avoir la teneur.

Les résultats sont donnés notés dans le tableau 12.

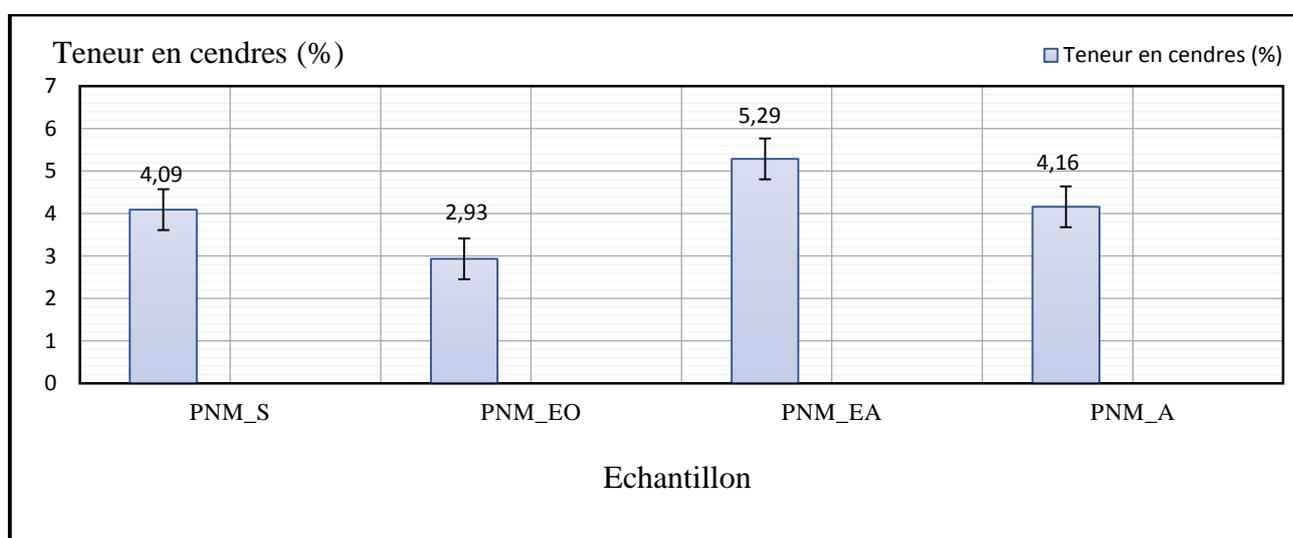
**Tableau 12** : Résultats des analyses physico-chimiques.

Echantillon	pH (à 19°C)	Teneur en cendre (%)	Teneur en baies légères (%)	Matières étrangères (%)
PNG_S	6.00		60.10	13.20
PNG_EO	6.20		65.93	0.33
PNG_EA	6.26		33.38	3.25
PNM_S	5.49	4.09		
PNM_EO	5.78	2.93		
PNM_EA	5.62	5.29		
PNM_A	6.10	4.16		
Sel	10.15			
Sable	9.31			



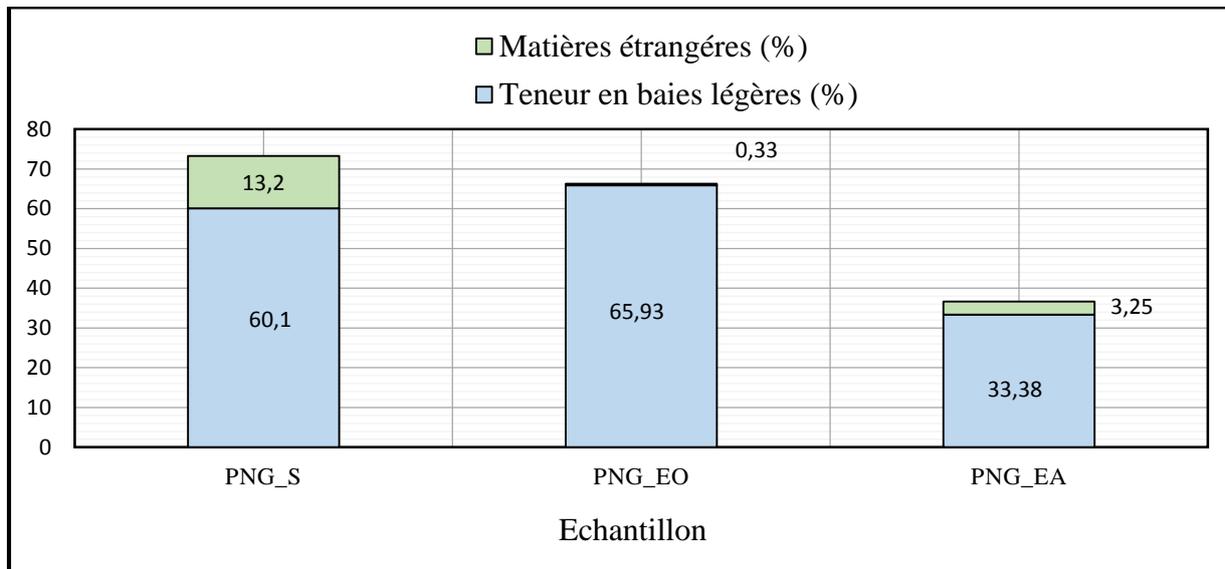
**Figure 22** : Présentation du pH en fonction des échantillons.

On remarque que les échantillons en grain ont une valeur de  $\text{pH} = 6.15 \pm 0.11$ , et celle des échantillons en poudre avec une valeur moyenne de  $\text{pH} = 5.75 \pm 0.23$ . Donc on peut en conclure que le poivre noir en poudre a un caractère un peu plus acide que celui en grains, car celui en poudre et beaucoup plus exposé à l'air les composés phénolique auront une surface plus grande de contact avec l'eau distillée et ainsi influencé avec leur caractère acide.



**Figure 23** : Présentation de la teneur en cendres (%) en fonction des échantillons.

Tous les échantillons présentent une valeur inférieure à celle de la valeur référence de 6 %, par ailleurs l'échantillon PNM\_EO en possède la teneur la plus basse.

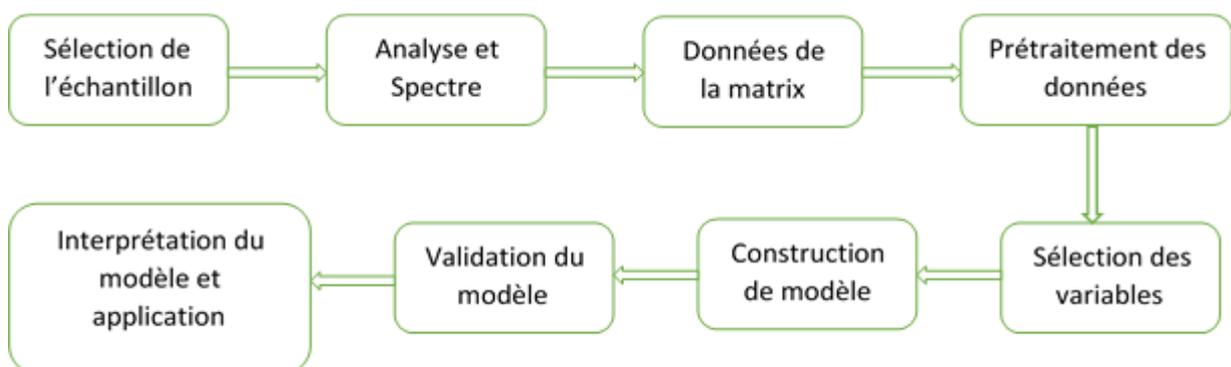


**Figure 24 :** Diagramme en colonne de la teneur en baies légères et en matières étrangères (%) en fonction des échantillons.

Pour la teneur en matières étrangères seul l'échantillon PNG\_EO présente une valeur respectant la référence de 0.5%, pour ce qui est de la teneur en baies légères tous les échantillons présentent des valeurs très grande jusqu'à 13 fois la valeur référence de 5%.

## II.2.Construction d'un système quantitatif ou modèle qualitatif multivarié

L'analyse d'échantillons à l'aide de techniques d'empreintes digitales spectroscopiques infrarouge est de plus en plus courante et répandue, car ils sont rapides, bon marché et non destructifs, aucun prétraitement d'échantillon n'est recherchée. En générale pour ce faire il faut suivre un protocole bien déterminé [60].



**Figure 25 :** Construction d'un modèle [60].

### **1. Sélection d'échantillons**

Une population étudiée doit être représentée par les échantillons analysés, en prenant en compte les sources de variabilité avec l'obligation de développement d'un modèle d'étalonnage. Les échantillons doivent être différents afin de prendre en compte les différentes sources de variabilité, telles que l'origine géographique, l'année de production, la période de récolte et technologies de production etc. [61].

### **2. Acquisition des spectres et des données de la matrice**

L'acquisition des spectres est très simple et généralement elle ne nécessite que quelques minutes voir quelques secondes selon la configuration mise par l'expérimentateur. Ensuite, les spectres doivent être disposés dans une matrice de données dans laquelle chaque ligne correspond à un échantillon et chaque colonne à une variable (longueur d'onde). Cette opération banale n'est pas toujours facile à réaliser car de nombreux instruments ne permettent l'exportation directe d'un ensemble de spectres [61].

### **3. Prétraitement des échantillons**

Les spectres peuvent être affectés par la granulométrie dans des échantillons solides et par des variations de longueur du chemin optique, afin d'éviter ou minimiser ces interférences, des prétraitements mathématiques sont nécessaires, parmi les prétraitements de données les plus courants sont la normalisation des méthodes telles que la variable normale standard [62].

### **4. Sélection des variables**

Puisque les spectres NIR (near infrared) et MIR (middle infrared) sont caractérisés par un grand nombre de variables, il est donc primordiale et vitale de bien choisir des paramètres pour obtenir des modèles qualitatives et quantitatives qui comporte des longueurs d'ondes utiles afin de les exploiter [62].

Plusieurs algorithmes sont utilisés pour le traitement, on peut en citer les plus utilisés qui sont la SLDA (analyse discriminante linéaire pas à pas), ISE (élimination interactive par étapes) et celle qui nous intéresse la PLS (moindres carrés partiels) [63].

### **5. Construction et validation des modèles**

Le choix de la méthode de classification ou de régression doit être réalisé selon le critère de simplicité, les modèles les plus simples sont également plus robustes et stables. Les plus utilisés sont LDA (l'analyse discriminante linéaire), SIMCA (modélisation de l'analogie de classe) comme modélisation de classe technique et la PLS (moindres carrés partiels) pour les variables multiples étalonnage [64].

Un modèle chimiométrique doit être évalué sur la base de sa capacité prédictive, la validation croisée est la plus courante procédure de validation [65].

## **6. Interprétation du modèle et application**

Cette étude présente une application de la spectroscopie infrarouge proche pour la détection et la quantification de la fraude et présence d'adultérant pour différents marques commerciales de poivre noir en poudre et en grain avec quelques échantillons poivre blanc, vert et rouge [66].

Les types de poivre noir sélectionnés afin d'être aussi représentatifs que possible du marché algérien, l'étalonnage a été défini par du poivre noir en grain et en poudre [66].

La régression des moindres carrés partiels PLS a été utilisée pour construire les modèles visant à prédire les quantités d'adultérant dans les échantillons de poivre noir, afin d'obtenir des modèles simplifiés, en tenant compte que des régions riches en information spectrale, des algorithmes génétiques ont été appliqués pour la sélection des caractéristiques. Ce qui a permis de réduire le nombre de points de données [66].

## **II.3 Simulation**

En absence de la pratique dans les laboratoires à cause de la pandémie du « COVID-19 » est du confinement, on a opté pour une simulation à l'aide de logiciels intégrés au spectromètre IRTF 'Omic 'et 'TQ Analyst' en exploitant des spectres issus de la base de données spectrales de notre équipe, afin de procéder à des traitements spectraux en vue d'analyses qualitative et quantitative. Ainsi, une calibration monovariée et une PLS, pour avoir des prédictions et des estimations d'adultérant dans des échantillons réels ont été menées.

### **II.3.1 Calibration monovariée d'un composé**

Les grignons d'olive sont riches en composés phénoliques à chaine classique pouvant atteindre les 10 à 20 g/kg. Comme le poivre noir peut présenter une falsification en ajoutant des grignons, on a considéré dans cette étude l'acide salicylique qui est un composé phénolique comportant un groupement hydroxyle en position ortho, et qui est présent dans les déchets des olives [67].

Afin de quantifier et d'avoir des estimations sur ce type d'adultération, nous commençons par établir une calibration monovariée de l'acide salicylique en utilisant la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.

### **II.3.1.1 Matériel et méthode**

#### **a) Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)**

Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier en mode ATR de marque Nicolet thermo science iS10, mené d'une source infrarouge moyen (4000-400  $\text{cm}^{-1}$ ).

Le traitement des spectres est réalisé avec le logiciel OMNIC (version 9.8), la calibration et la détermination de la droite sont également effectuées avec le logiciel TQ Analyst (version 9.7) sur un système d'exploitation Microsoft Windows 7.

#### **b) Logiciels**

##### **1. OMNIC**

Le logiciel OMNIC a servi à lire les différents spectres établis de plusieurs échantillons ainsi que un blanc, le logiciel permet de donnée la moyenne et la variance  $\sigma$  de 10 blancs ainsi que les autres spectres d'échantillons de différentes concentrations, et a permis de déterminer les paramètres analytiques.

##### **2. TQ Analyst**

Ce logiciel permet avec une configuration adéquate d'établir une équation de calibration en suivant les instructions, après avoir choisis le type d'analyse 'analyse quantitative' simple loi de beer-lambert on introduit les données concernées de l'échantillon ainsi que leur spectres traités préalablement avec l'OMNIC, le point de longueur d'ondes choisi et suivis avec deux points de ligne de base.

Une droite d'étalonnage et établi avec une équation de forme ( $Y = a.C+b$ ) ou **a** représente la pente, **b** le point d'intersection avec l'axe **Y** et **C** la concentration de l'échantillon.

Une optimisation est nécessaire si tous les points ne sont pas sur la droite de calibration, sur le logiciel on ignore les points divergents, on obtient par la suite une droite et une droite exploitable.

#### **c) Paramètres analytiques d'un échantillon analyte dans un solvant par FTIR**

**Loi de BEER-LAMBERT** : Il s'agit d'une loi exploitée par les chimistes afin de mesurer l'absorbance d'un échantillon particulier, et d'en déduire la concentration de la solution à partir de cette mesure, d'une espèce chimique particulière dans une solution tant que l'espèce absorbe la lumière d'une longueur d'onde particulière connue, tel que la loi :  $A = \epsilon \times L \times C$ , où **A** : Absorbance,  $\epsilon$  : le coefficient d'absorption molaire ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ), **L** : Trajet optique (cm) et **C** : Concentration de la substance dans la solution ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) [68].

### 1. Equation de calibration

Cette équation de la forme  $Y = a.C + b$  permet d'obtenir la valeur de la pente  $a$  qui va être utilisé par la suite pour déterminer d'autres paramètres.

### 2. Coefficient de corrélation

Le coefficient de corrélation linéaire  $R$  donne une mesure de l'intensité et du sens de la relation linéaire entre deux variables. Il est compris entre  $-1$  et  $1$ , plus le coefficient est proche de  $1$  plus la relation linéaire positive entre les variables est forte.

### 3. Absorbance sélectionnée $\lambda$ max

La fréquence sélectionnée est la longueur d'onde maximale  $\lambda$  en ( $\text{cm}^{-1}$ ) caractéristique et spécifique qui est choisie pour une analyse qualitative ou quantitative.

### 4. Lignes de bases

Ils sont optimisés via le logiciel TQ Analyst directement sur le spectre, selon  $\lambda$  choisis.

### 5. Limite de détection (LD)

À partir d'une mesure faite sur un blanc analytique, on calcule l'écart type du signal cette limite de détection  $LD$  correspond à la concentration la plus basse qui conduit à un signal dont l'intensité est égale à 3 fois celle de l'écart type du blanc  $LD = (3 \times \sigma) / a$ , est c'est donc la plus petite grandeur d'analyte qui peut être détectée.

### 6. Limite de quantification

À partir d'une mesure faite sur un blanc analytique, on calcule l'écart type du signal, cette limite de quantification est calculée en prenant comme valeur du signal 10 fois la valeur de l'écart type du blanc  $LQ = (10 \times \sigma) / a$ , est c'est donc la plus petite grandeur d'un analyte quantifiable.

### 7. L'écart type relatif

Pour établir ce paramètre il faut considérer 10 spectres d'un échantillon à la concentration médiane. Ensuite à l'aide du logiciel OMNIC définir la moyenne et la variance de ces 10 spectres les valeurs obtenues à une longueur d'onde définie sont utilisées dans l'équation suivante :

$$RSD = (\sigma \times 100) / x$$

Où  $\sigma$  Variance et  $x$  la moyenne de la concentration médiane à la longueur d'onde choisis.

### 8. Domaine dynamique

C'est le domaine de concentration utilisée pour établir les spectres et une droite de calibration à une unité définie.

### 9. Domaine linéaire

C'est le domaine où les concentrations sont incluses dans la droite de calibration à une unité définie.

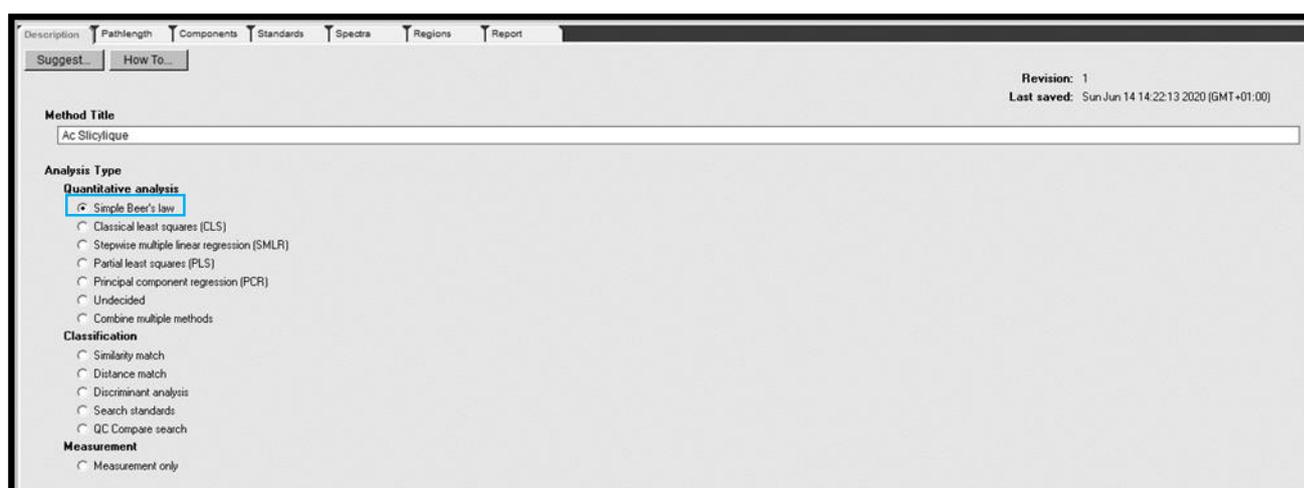
#### d) **Manipulation sur logiciel (TQAnalyst) :**

On a exploité des spectres de l'acide salicylique à différentes concentrations telles que (S1=0.1 mg.mL<sup>-1</sup> ; S2=0.5 mg.mL<sup>-1</sup> ; S3=1 mg.mL<sup>-1</sup> ; S4=2 mg.mL<sup>-1</sup> ; S5=3 mg.mL<sup>-1</sup> ; S6=4 mg.mL<sup>-1</sup> ; S7=5 mg.mL<sup>-1</sup>), ainsi que les spectres de 10 blancs.

Par la suite, on a sélectionné des bandes pour déterminer les paramètres analytiques optimaux.

Pour chaque bande sélectionnée par rapport à l'aspect gaussien et à l'absence de chevauchement On a procédé à une calibration et on a exploité les droites d'étalonnage obtenues pour acquérir des résultats fiables, une optimisation est parfois nécessaire pour améliorer les paramètres calculés.

Les figures 26 à 30 montrent les étapes à suivre sur le logiciel pour procéder à une calibration monovariée.



**Figure 26 :** Choix de la méthode d'analyse (Loi de Beer-Lambert).



Figure 27 : Indexation du composé de l'unité de mesure et des limites d'analyses.

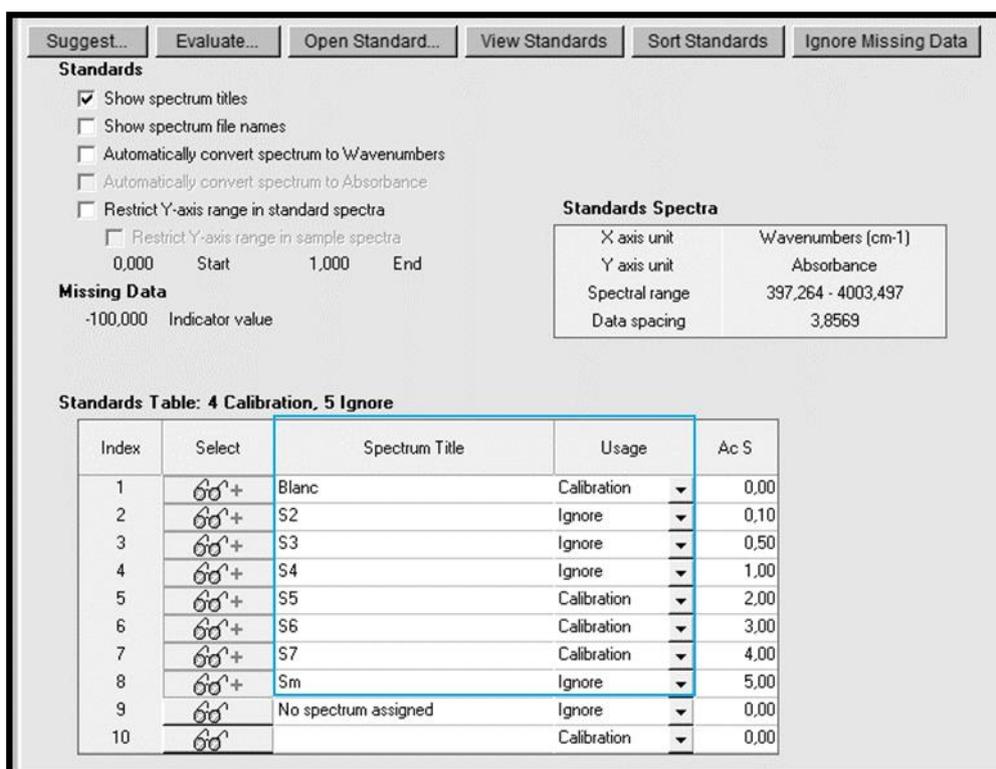


Figure 28 : Insertion des spectres pour une calibration.

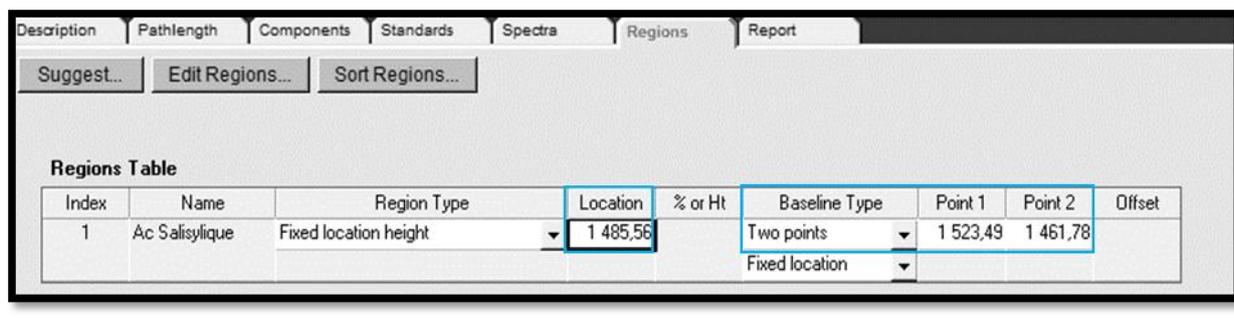


Figure 29 : Fixation d'une fréquence et d'une ligne de base.

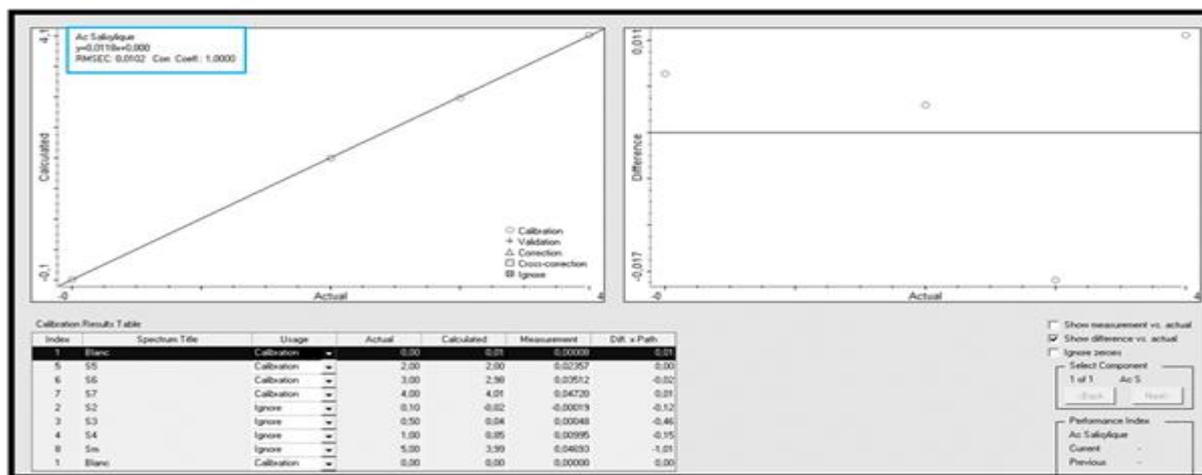


Figure 30 : Résultats d'une calibration.

Les étapes suivies sur le logiciel permettent d'avoir les résultats suivant :

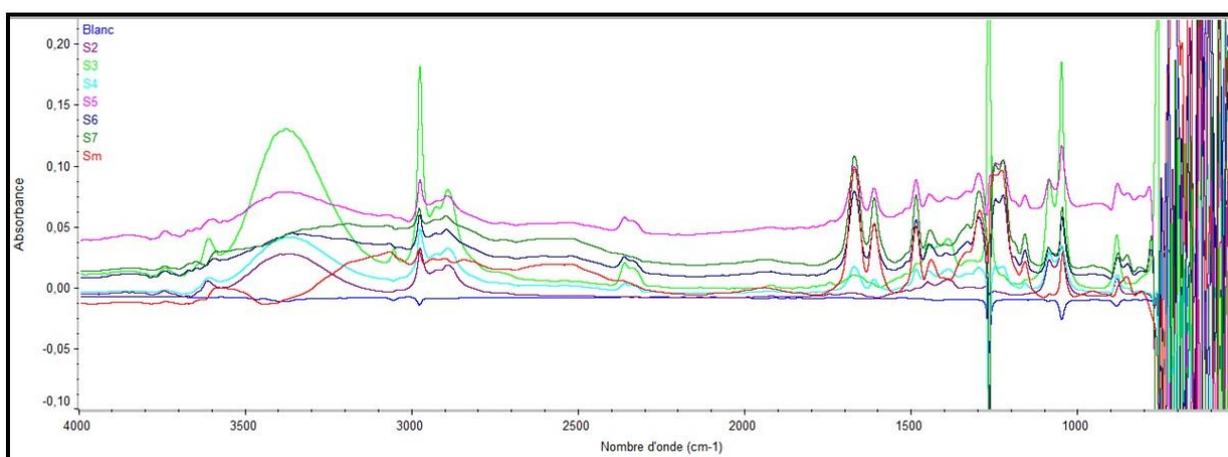


Figure 31 : Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant.

Après avoir mis les spectres sous une échelle commune, on cherche les zones qui présentent des absorbance a exploité, là où il y a un aspect gaussien et ne présentant pas de chevauchement et aussi une croissance des pics avec la croissance des concentrations, les absorbance sont aussi choisis par rapport à la linéarité pour le domaine linéaire afin d'avoir de bon résultats pour la droite d'étalonnage.

Tableau 13 : Interprétation des absorbances sélectionnées de l'acide salicylique.

Composé	Interprétation			
	Groupement	Liaison	Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Vibration
Acide salicylique	Aromatique	C=C	1486-1610	élongation
	Alcène	C=C	1671	élongation
	Acide	C=O	1700-1725	Elongation
	Acide	O-H associé	2500-3300	élongation
	Alcools et phénols	O-H associé	3200-3400	élongation

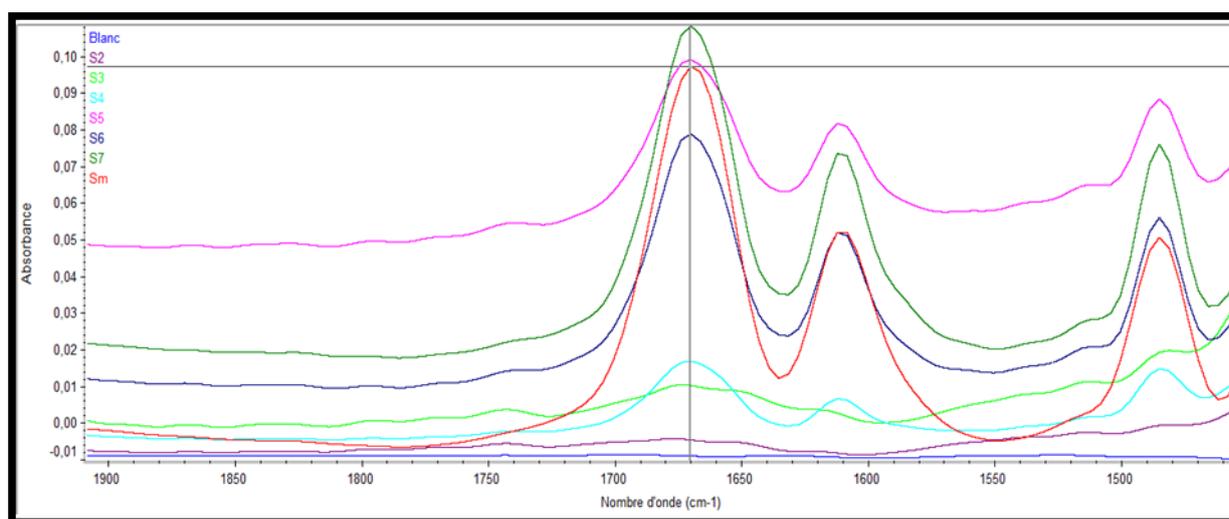


Figure 32 : Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, absorbance sélectionnée à 1671 cm<sup>-1</sup>.

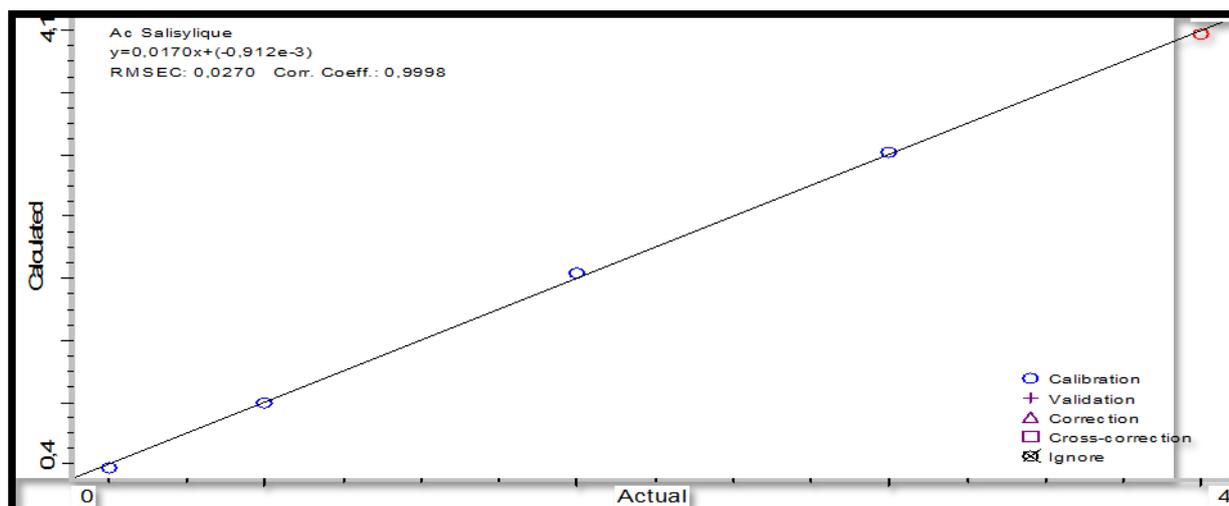
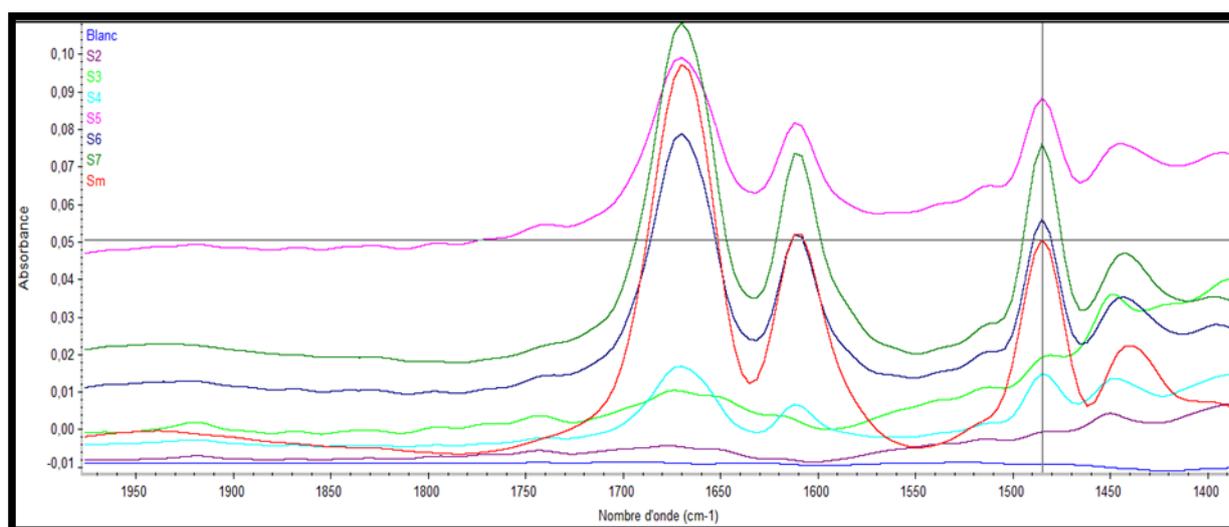


Figure 33 : Droite d'étalonnage de l'acide salicylique à 1671 cm<sup>-1</sup>.

**Tableau 14** : Paramètres analytiques de l'acide salicylique dilué dans le solvant, obtenus à 1671  $\text{cm}^{-1}$ .

Paramètres Analytiques	Etalon considéré
Droite de calibration	$A = 0.0170.C - 0.0009$
Coefficient de corrélation (R)	0.9998
Absorbance sélectionnée	1671 $\text{cm}^{-1}$
Ligne de base	P1= 1750 $\text{cm}^{-1}$ ; P2= 1620 $\text{cm}^{-1}$
Limite de détection LD ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LD = (3 \times \sigma) / a = (3 \times 0.017) / 0.0170 = 3 \text{ mg.mL}^{-1}$ (3000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Limite de quantification LQ ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LQ = (10 \times \sigma) / a = (10 \times 0.017) / 0.0170 = 10 \text{ mg.mL}^{-1}$ (10000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Déviations Relatives Standards (RSD%) (C = 2 $\text{mg.mL}^{-1}$ )	$RSD = (\sigma \times 100) / x = (0.019 \times 100) / 0.087 = 22 \%$
Domaine dynamique	[0.1 – 5.0] $\text{mg.mL}^{-1}$
Domaine linéaire	[0.5 – 4.0] $\text{mg.mL}^{-1}$



**Figure 34** : Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, Absorbance sélectionnée à 1486  $\text{cm}^{-1}$ .

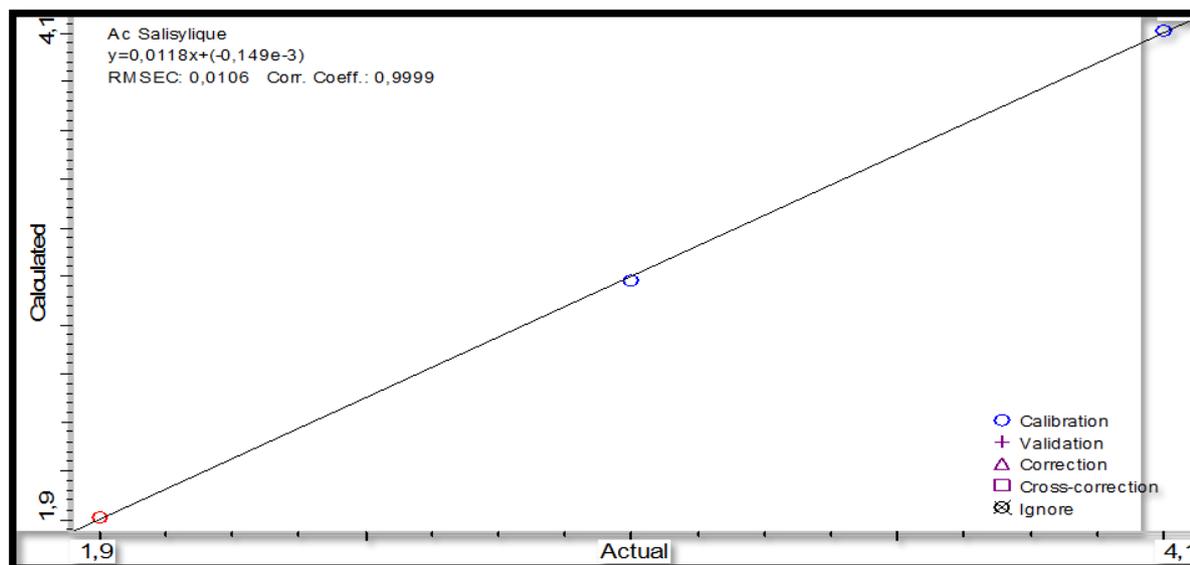
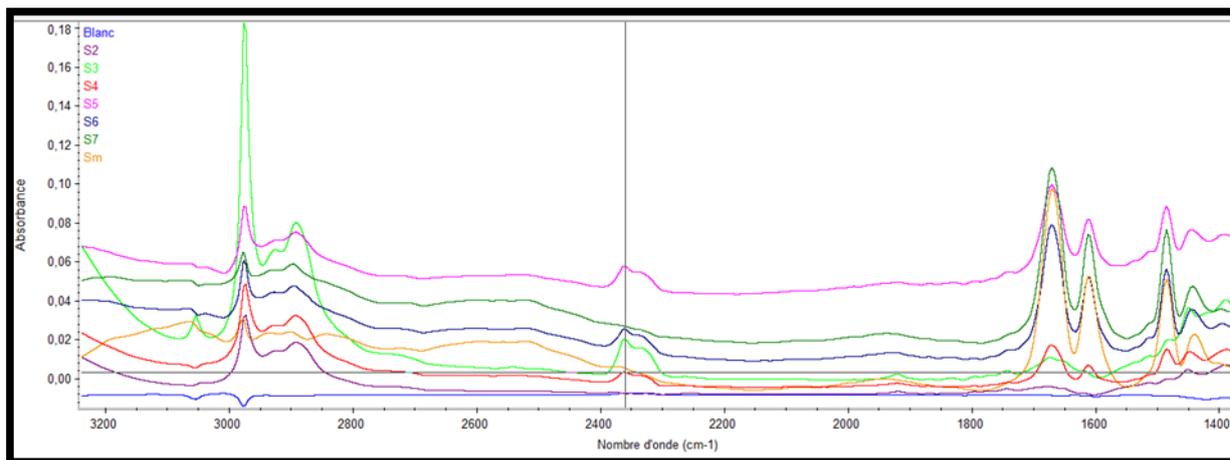


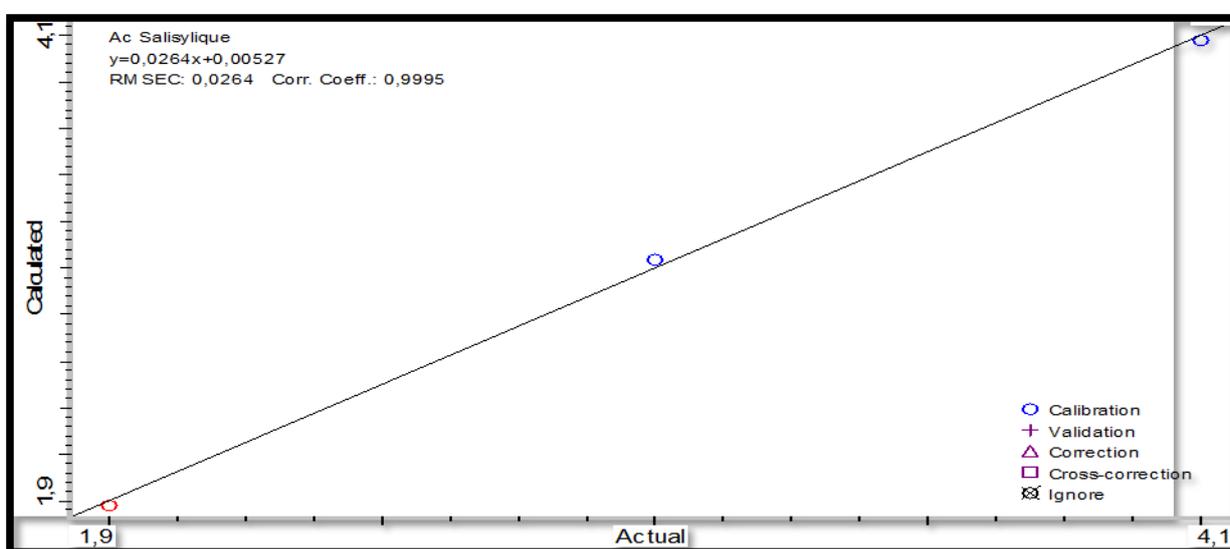
Figure 35 : Droite d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant à  $1486\text{ cm}^{-1}$ .

Tableau 15 : Paramètres analytiques obtenus à  $1486\text{ cm}^{-1}$ .

Paramètres Analytiques	Etalon considéré
Droite de calibration	$A = 0.0118C - 0.0002$
Coefficient de corrélation (R)	0.9999
Absorbance sélectionnée	$1486\text{ cm}^{-1}$
Ligne de base	$P_1 = 1523\text{ cm}^{-1}$ ; $P_2 = 1462\text{ cm}^{-1}$
Limite de détection LD ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LD = (3 \times \sigma) / a = (3 \times 0.017) / 0.0118 = 4.3\text{ mg.mL}^{-1}$ ( $4300\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Limite de quantification LQ ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LQ = (10 \times \sigma) / a = (10 \times 0.017) / 0.0118 = 14.4\text{ mg.mL}^{-1}$ ( $14\,400\text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Déviations Relatives Standards (RSD%) ( $C = 2\text{ mg.mL}^{-1}$ )	$RSD = (\sigma \times 100) / x = (0.022 \times 100) / 0.075 = 29\%$
Domaine dynamique	$[0.1 - 5.0]\text{ mg.mL}^{-1}$
Domaine linéaire	$[2.0 - 4.0]\text{ mg.mL}^{-1}$



**Figure 36 :** Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, Absorbance sélectionnée a  $2361\text{ cm}^{-1}$ .



**Figure 37 :** Droite d'étalonnage de l'acide salicylique obtenue à  $2361\text{ cm}^{-1}$ .

**Tableau 16 :** Paramètres analytiques de l'acide salicylique obtenus à  $2361\text{ cm}^{-1}$ .

Paramètres Analytiques	Étalon considéré
Equation de calibration	$A = 0.0264.C + 0.0053$
Coefficient de corrélation (R)	0.9995
Absorbance sélectionnée	$2361\text{ cm}^{-1}$
Ligne de base	$P_1 = 1524\text{ cm}^{-1}$ ; $P_2 = 1462\text{ cm}^{-1}$

<b>Limite de détection LD</b> ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LD = (3x\sigma)/a = (3 \times 0.014)/0.0264 = 1.6 \text{ mg.mL}^{-1}$ ( $1600 \mu\text{g.mL}^{-1}$ )
<b>Limite de quantification LQ</b> ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LQ = (10x\sigma)/a = (10 \times 0.014)/0.0264 = 5.3 \text{ mg.mL}^{-1}$ ( $5300 \mu\text{g.mL}^{-1}$ )
<b>Déviatiion Relative Standards</b> (RSD%) ( $C = 2 \text{ mg.mL}^{-1}$ )	$RSD = (\sigma \times 100) / x = (0.013 \times 100)/0.049 = 26.5 \%$
<b>Domaine dynamique</b>	[0.1 – 5.0 ] $\text{mg.mL}^{-1}$
<b>Domaine linéaire</b>	[2.0 – 4.0] $\text{mg.mL}^{-1}$

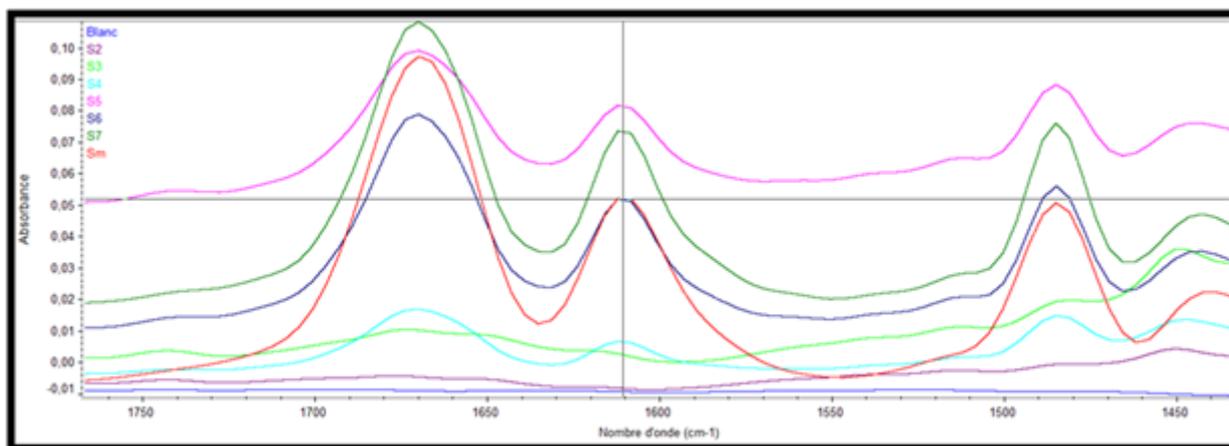


Figure 38 : Spectres de la série d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans le solvant, absorbance sélectionnée à  $1610 \text{ cm}^{-1}$ .

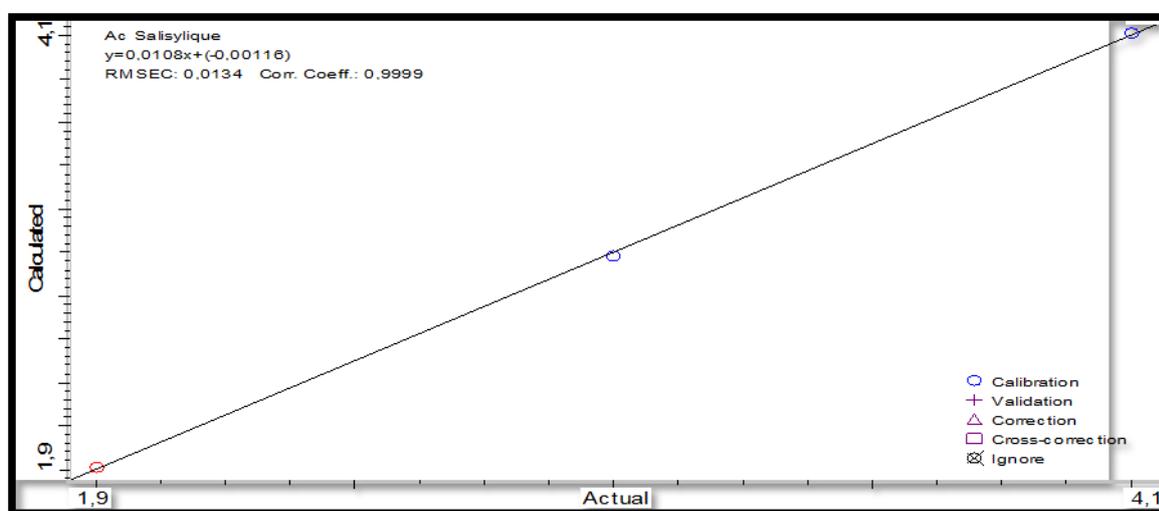


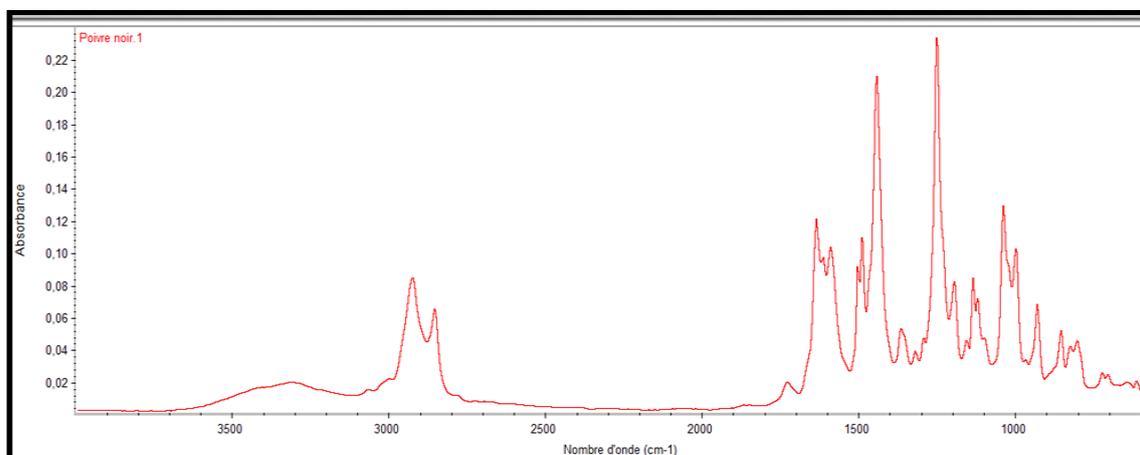
Figure 39 : Droite d'étalonnage de l'acide salicylique dilué dans un le solvant à  $1610 \text{ cm}^{-1}$ .

Tableau 17 : Paramètres analytiques de l'acide salicylique obtenus à 1610 cm<sup>-1</sup>.

Paramètres Analytiques	Etalon considéré
Equation de calibration	$A = 0.0108.C - 0.0012$
Coefficient de corrélation (R)	0.9999
Fréquence sélectionnée	1610 cm <sup>-1</sup>
Points de la ligne de base	$P_1 = 1631 \text{ cm}^{-1}$ ; $P_2 = 1577 \text{ cm}^{-1}$
Limite de détection LD ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LD = (3 \times \sigma) / a = (3 \times 0.017) / 0.0108 = 4.7 \text{ mg.mL}^{-1}$ (4700 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Limite de quantification LQ ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	$LQ = (10 \times \sigma) / a = (10 \times 0.017) / 0.0108 = 15.7 \text{ mg.mL}^{-1}$ (15 700 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )
Déviations Relatives Standards (RSD%) ( $C = 2 \text{ mg.mL}^{-1}$ )	$RSD = (\sigma \times 100) / x = (0.02 \times 100) / 0.069 = 29 \%$
Domaine dynamique	[0.1 – 5.0 ] mg.mL <sup>-1</sup>
Domaine linéaire	[2.0 – 4.0] mg.mL <sup>-1</sup>

### e) Exploitation des droites de calibration :

Après avoir optimisé les différents paramètres analytiques et vérifier leur fiabilité, on a procédé à une quantification sur un échantillon réel qui est le poivre noir, on a obtenu les résultats suivants pour chaque absorbance maximale.



**Figure 40 :** Spectre ATR d'un échantillon réel de poivre noir.

**Tableau 18 :** Concentration de l'acide salicylique de différentes bandes, pour le poivre noir.

Composé	$\lambda_{\max}$ (cm <sup>-1</sup> )	Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )
Acide salicylique	1486	4.37
	1671	0
	2361	32.01
	1610	0

## II.3.2 La méthode des moindres carrés partiels (PLS)

La méthode PLS (Partial least squares) fournit des résultats d'estimation cohérents. Cela fait du PLS un outil précieux pour tester les théories, un autre atout de l'approche PLS est sa capacité à gérer des indicateurs des erreurs même dans un modèle d'équation structurelle. Ce qui indique que l'approche PLS est appropriée pour l'analyse qui explore les structures et les modèles d'équations offrent également une contribution significative au développement de la théorie [70].

### II.3.2.1 Erreurs et coefficient reliés à la PLS

1. **RMSEC:** (Root Mean Square Error of Calibration) erreur d'étalonnage, c'est-à-dire les résidus des données d'étalonnage. Il mesure la qualité de l'ajustement entre vos données et le modèle d'étalonnage. Selon le type de données, le modèle et l'application, cela peut être soumis à un énorme biais optimiste en raison d'un sur-ajustement par rapport au (R) MSE

observé pour des cas réels lors de l'application de l'étalonnage. Si le modèle souffre de ne pas être suffisamment complexe (sous-ajustement), l'erreur d'étalonnage se rapproche de l'erreur de prédiction. Mais cela ne peut pas indiquer un sur-ajustement [69].

**2. RMSECV:** (Root-Mean-Square Error of Cross-Validation) les erreurs sont calculées sur les fractionnements à l'aide d'un schéma de validation croisée pour le fractionnement.

Si le fractionnement des données est effectué correctement, cela donne une bonne estimation de la façon dont le modèle construit sur l'ensemble de données à portée de main fonctionne pour les cas inconnus. Cependant, en raison de la nature du ré échantillonnage de l'approche, elle mesure en fait les performances pour les cas inconnus qui ont été obtenus parmi les cas d'étalonnage. C'est à dire. Il ne mesure pas dans quelle mesure le modèle fonctionne pour les cas qui sont mesurés des mois après l'étalonnage.

**3. RMSEP:** (Root Mean Square Error of Prediction) erreur de prédiction, c'est-à-dire mesurée sur des cas réels et comparée aux valeurs de référence obtenues pour ceux-ci. RMSEP peut mesurer par exemple comment les performances se dégradent au fil du temps (par exemple en raison de la dérive des instruments), mais uniquement si les expériences de validation ont une conception qui permet de mesurer ces influences.

**4. LV :** (Latent Variable) variable latente, l'estimation d'une variable latente se fait en analysant la variance et la covariance des indicateurs. Le modèle de mesure d'une variable latente avec des indicateurs d'effet est l'ensemble des relations (modélisées sous forme d'équations) dans lesquelles la variable latente est définie comme le prédicteur des indicateurs.

**5. Coefficient de Corrélation :** (R) Le coefficient de corrélation donne une mesure de l'intensité et du sens de la relation linéaire entre deux variables.

### **II.3.2.2 Validation Croisée**

La validation croisée (Cross Validation) est l'une des diverses techniques de validation de modèle pour évaluer la façon dont les résultats d'une analyse généralisera un ensemble de données indépendant. Il est principalement utilisé dans des contextes où l'objectif est la prédiction, et l'on veut estimer avec précision la performance d'un modèle prédictif dans la pratique. Dans un problème de prédiction, un modèle reçoit généralement un ensemble de données connues sur lesquelles la formation est exécutée et un ensemble de données inconnues par rapport auxquelles le modèle est testé.

L'objectif de la validation croisée est de tester la capacité du modèle à prédire de nouvelles données qui n'ont pas été utilisées pour les estimer.

Un cycle de validation croisée consiste à partitionner un échantillon de données en sous-ensembles complémentaires, à effectuer l'analyse sur l'ensemble d'apprentissage et à valider l'analyse sur l'ensemble de validation.

### **II.3.3 Données et traitement**

Pour réaliser une calibration multivariée, on a considéré des spectres de mélanges d'étalons à différentes concentrations. Il s'agit de trois composés l'acide Vanillique, l'acide *p*-hydroxybenzoïque et l'acide salicylique préparés à une concentration de 10 mg.mL<sup>-1</sup> comme illustré dans le tableau 19.

**Tableau 19** : Composition des solutions étalons à 10 mg mL<sup>-1</sup> (matrice de calibration).

Étalon	Acide Vanillique		Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque		Acide salicylique	
	C <sub>F</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (ml)	C <sub>F</sub> (mg.mL <sup>-1</sup> )	V <sub>M</sub> (mL)
<b>M 01</b>	2	1	3	1.5	4	2
<b>M 02</b>	0.2	0.1	0.3	0.15	0.4	0.2
<b>M 03</b>	2	1	0.3	0.15	0.4	0.2
<b>M 04</b>	2	1	3	1.5	0.4	0.2
<b>M 05</b>	0.2	0.1	3	1.5	4	2
<b>M 06</b>	0.2	0.1	0.3	0.15	4	2
<b>M 07</b>	0.2	0.1	3	1.5	0.4	0.2
<b>M 08</b>	2	1	0.3	0.15	4	2

C<sub>M</sub> : concentration de la solution mère, C<sub>F</sub>: concentration de la solution fille.

Pour la validation du modèle, on a considéré douze spectres de trois composés à trois concentrations différentes, comme montré sur le tableau 20.

**Tableau 20** : Concentration des composées de validation.

Composé	Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )
<b>Acide vanillique</b>	1.0
<b>Acide <i>p</i>-hydroxybenzoïque</b>	1.8
<b>Acide salicylique</b>	2.0

On a procédé par la suite à la sélection des régions spectrales, où on a estimé qu'il y aura une exploitation optimale, quatre régions sont testées afin d'avoir des résultats fiables.

Une calibration est faite par la suite, une optimisation des facteurs (LV) et des régions spectrales, une détermination des concentrations des composés, ensuite la validation du modèle.

### II.3.4 Etape suivis sur TQAnalyst

Afin de pouvoir établir un modèle de la méthode PLS, il faut considérer ce qui est montré sur les figures 41 à 47 :



Figure 41 : Choix de la méthode.

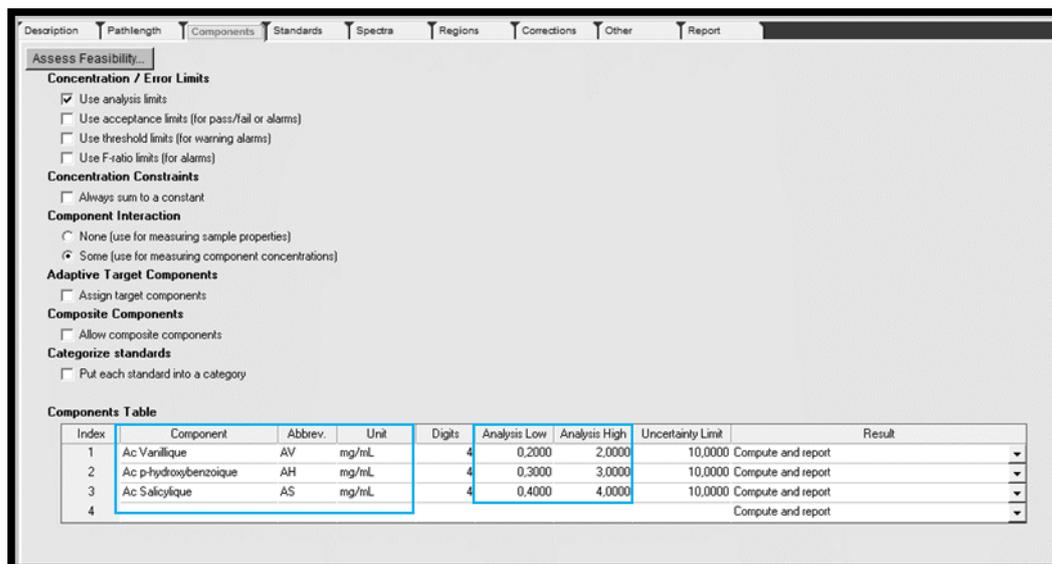


Figure 42 : Indexation des composés de l'unité de mesure et les limites d'analyse.

**Standards Table: 40 Calibration, 12 Validation, 3 Ignore**

Index	Select	File Name	Spectrum Title	Usage	AV	AH	AS
32	<input checked="" type="checkbox"/>	m7-2.jws.dx.0	M7	Calibration	0,2000	3,0000	0,4000
33	<input checked="" type="checkbox"/>	m7-5.jws.dx.0	M7	Calibration	0,2000	3,0000	0,4000
34	<input checked="" type="checkbox"/>	m7-7.jws.dx.0	M7	Calibration	0,2000	3,0000	0,4000
35	<input checked="" type="checkbox"/>	m7-8.jws.dx.0	M7	Calibration	0,2000	3,0000	0,4000
36	<input checked="" type="checkbox"/>	m8-1.jws.dx.0	M8	Calibration	2,0000	0,3000	4,0000
37	<input checked="" type="checkbox"/>	m8-4.jws.dx.0	M8	Calibration	2,0000	0,3000	4,0000
38	<input checked="" type="checkbox"/>	m8-5.jws.dx.0	M8	Calibration	2,0000	0,3000	4,0000
39	<input checked="" type="checkbox"/>	m8-6.jws.dx.0	M8	Calibration	2,0000	0,3000	4,0000
40	<input checked="" type="checkbox"/>	m8-8.jws.dx.0	M8	Calibration	2,0000	0,3000	4,0000
41	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(1)-4.jws.dx.0	M4(1)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
42	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(2)-1.jws.dx.0	M4(2)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
43	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(2)-6.jws.dx.0	M4(2)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
44	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(1)-3.jws.dx.0	M4(1)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
45	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(2)-2.jws.dx.0	M4(2)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
46	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(2)-4.jws.dx.0	M4(2)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000
47	<input checked="" type="checkbox"/>	m4(1)-2.jws.dx.0	M4(1)	Validation	1,0000	1,8000	2,0000

Figure 43 : Introduction des spectres de calibration et de validation.

**Regions Table**

Index	Region Type	Location	% or Ht	Baseline Type	Point 1	Point 2	Offset
1	Spectrum Range	1 765,10 1 564,70		None			
2	Spectrum Range	1 565,30 1 354,10		None			
3	Spectrum Range	1 174,52 1 139,11		None			
4	Spectrum Range	891,03 844,99		None			
5							

**Components in Regions Table**

Index	Measurement Location / Range	AV	AH	AS
1	1765,10 - 1564,70	+	+	+
2	1565,30 - 1354,10	+	+	+
3	1174,52 - 1139,11	+	+	+
4	891,03 - 844,99		+	+

Figure 44 : Choix des régions spectrales.

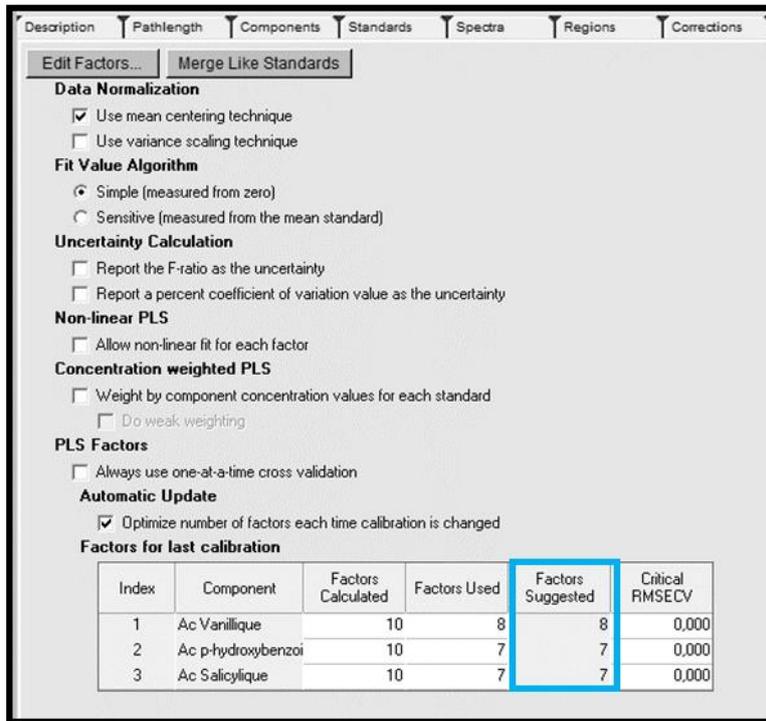


Figure 45 : Optimisation des facteurs LV.

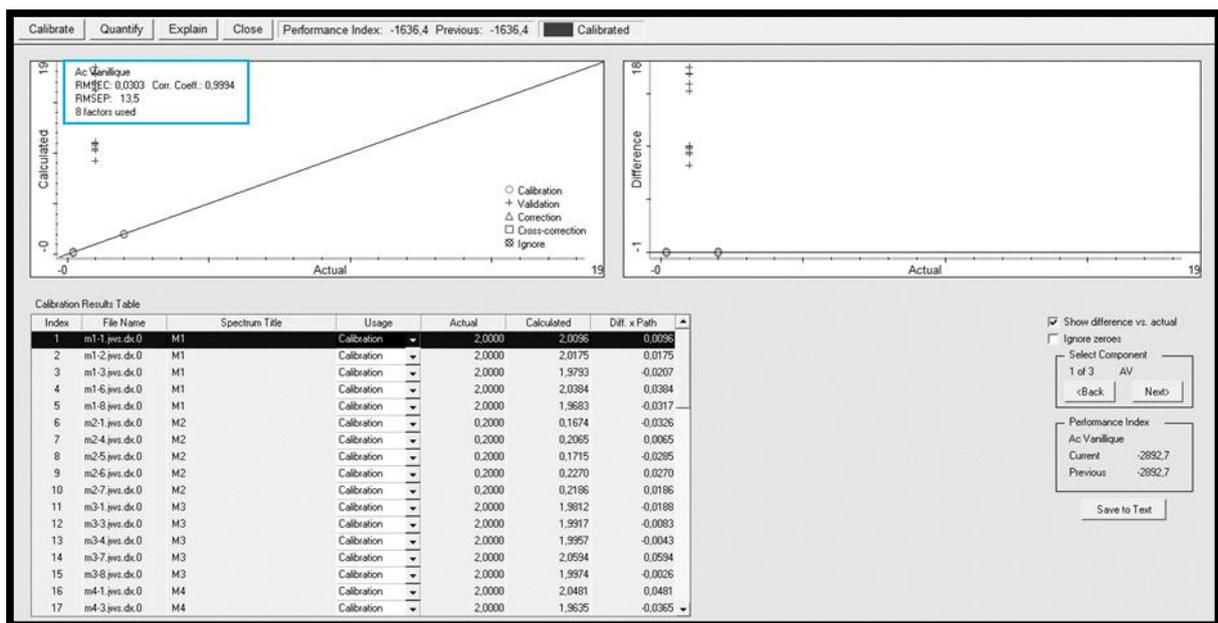


Figure 46 : Analyse de l'acide vanillique par IRTF en utilisant la calibration PLS.

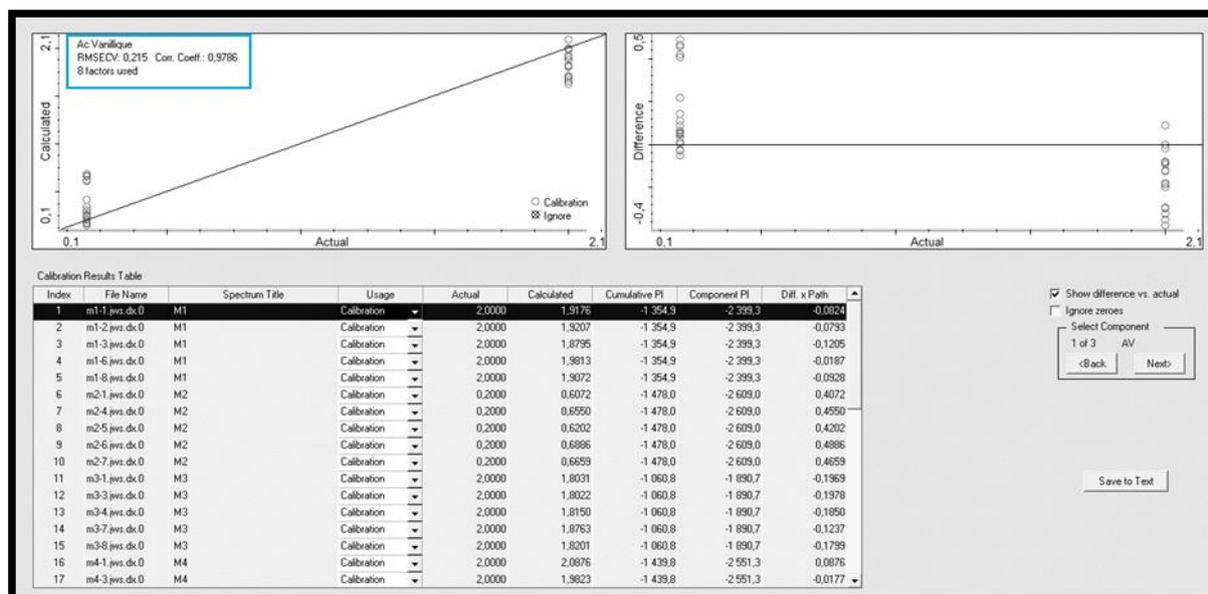


Figure 47 : Analyse de l'acide Vanillique par IRTF en utilisant la Cross-Validation PLS.

## II.4 Acquisition des résultats

### II.4.1 Calibration PLS d'une matrice à trois étalons

Après avoir procédé à une calibration et à une validation croisée on a obtenu les résultats, qui sont représentés sur les tableaux 21-23 :

Tableau 21 : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide p-hydroxybenzoïque.

Composé	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>c<sub>v</sub></sub>
Acide p-hydroxybenzoïque	Pas de traitement	1 765,10-1 564,70	6	0.0777	99.83	0.263	98.63
	Centrage moyen		6	0.0679	99.87	0.21731	99.15
	Première Dérivée	1 565,30-1 354,10	7	0.0624	99.89	0.22665	98.94
Centrage moyen	1 174,52-1 139,11						
	Seconde Dérivée	891,03-844,99					
	Centrage moyen						

**Tableau 22** : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide salicylique.

Composé	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>C</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>Cv</sub>
Acide Salicylique	Pas de traitement Centrage moyen	1 765,10-1 564,70	7	0.0256	99.99	0.136	99.80
		1 565,30-1 354,10					
	Première Dérivée Centrage moyen	1 174,52-1 139,11	6	0.0362	99.98	0.39136	99.88
		891,03-844,99	8	0.0321	99.98	0.09673	99.86

**Tableau 23** : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de l'acide Vanillique.

Composé	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	L V	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>C</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>Cv</sub>
Acide Vanillique	Pas de traitement Centrage moyen	1 765,10-1 564,70	5	0.1380	98.82	0.215	97.86
		1 565,30-1 354,10					
	Première Dérivée Centrage moyen	1 174,52-1 139,11	9	0.0153	99.99	0.27180	96.31
		891,03-844,99	10	0.0205	99.97	0.53278	99.86

#### **II.4.2 Calibration, validation et prédiction PLS d'une matrice à trois étalons**

Dans cette partie de la simulation on s'intéresse à une adultération par grignons d'olive qui sont les résidus séchée du broyage des olive, c'est essentiellement la peau et les noyaux d'olives.

Ce produit est parfois utilisé pour falsifier le poivre noir en poudre, pour gagner en poids.

Les grignons d'olive présente des quantités de différents de phénols, on utilise les acides phénoliques suivant (acide salicylique, l'acide p-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique) pour la PLS.

Après la calibration on introduit des spectres qui vont faire office de spectres de validation et des prédictions pour la matrice qu'on traite, les résultats obtenus sont noté sur les tableaux 24 et 26.

**Tableau 24 :** Composition des mélanges synthétiques (matrice de validation) correspondant à la matrice de calibration avec un design de  $3^2$ .

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

**Tableau 25 :** Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination de la calibration et de prédiction de l'acide *p*-hydroxybenzoïque.

Composé	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RMSEP (mg.mL <sup>-1</sup> )
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	Pas de traitement Centrage moyen	1 765,10-1 564,70 1 565,30-1 354,10 1 174,52-1 139,11 891,03-844,99	6	0.0777	99.83	0.225	99.00	1.72
	Première Dérivée Centrage moyen		6	0.0679	99.87	0.217	99.05	0.348
	Seconde Dérivée Centrage moyen		7	0.0624	99.89	0.227	98.94	0.748

**Tableau 26** : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration, de la cross-validation et de la prédiction de l'acide salicylique.

Composé	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>C</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RMSEP (mg.mL <sup>-1</sup> )
Acide Salicylique	Pas de traitement Centrage moyen	1 765,10-1 564,70	7	0.0256	99.99	0.158	99.76	1.88
	Première Dérivée Centrage moyen	1 565,30-1 354,10	6	0.0362	99.98	0.0989	99.87	0.848
		1 174,52-1 139,11						
Seconde Dérivée Centrage moyen	891,03-844,99	8	0.0321	99.98	0.0967	99.90	0.765	

**Tableau 27** : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration, de la cross-validation et de prédiction de l'acide Vanillique.

Composés	Traitements Spectral	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>C</sub>	RMSECV (mg.mL <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup> <sub>cv</sub>	RMSEP (mg.mL <sup>-1</sup> )
Acide Vanillique	Pas de traitement Centrage moyen	1 765,10-1 564,70	5	0.1380	98.82	0.560	80.55	4.77
	Première Dérivée Centrage moyen	1 565,30-1 354,10	9	0.0153	99.99	0.272	96.49	2.60
		1 174,52-1 139,11						
Seconde Dérivée Centrage moyen	891,03-844,99	10	0.0205	99.97	0.533	82.53	0.472	

La sélection des modèles choisis, représentés dans les Tableaux 25 - 27, se fait selon la plus petite valeur de l'erreur de la prédiction. Ce qui correspond aux erreurs (RMSEP) de l'acide p-hydroxybenzoïque, de l'acide salicylique et de l'acide Vanillique de 0.348, de 0.765 et de 0.472 mg.mL<sup>-1</sup>, respectivement. Les échantillons testés avec les plus faibles taux d'erreurs qui correspondent aux modèles de validation et de calibration sélectionnés.

### II.4.3 Quantification de différents échantillons commerciaux par PLS-FTIR

Après avoir optimisé la méthode PLS, et en disposant de trois échantillons réels qui sont PNM\_EO, PNM\_EA et PNM\_A (Figures 44-46) on a procédé à une analyse de quantification et à une calibration ciblée « Target » on a obtenu les résultats notés dans les tableaux 27-28.

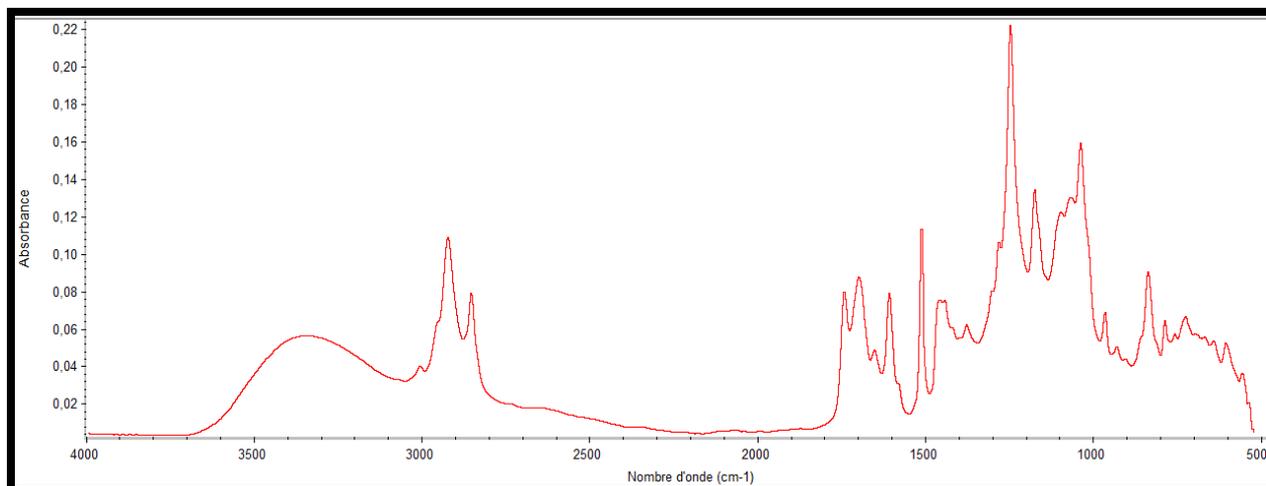


Figure 48 : Spectre ATR de l'échantillon PNM\_EO.

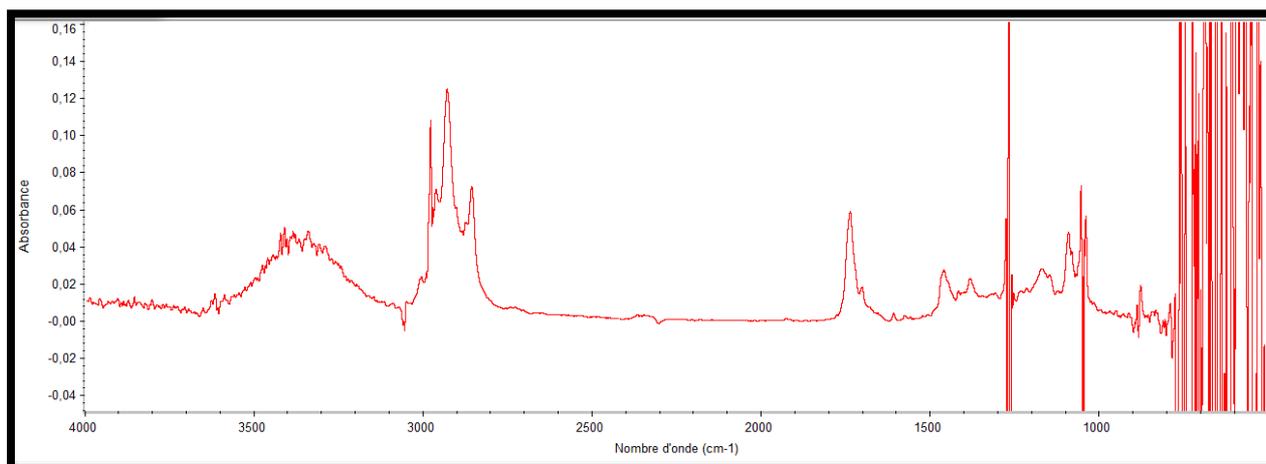


Figure 49 : Spectre ATR de l'échantillon PNM\_EA.

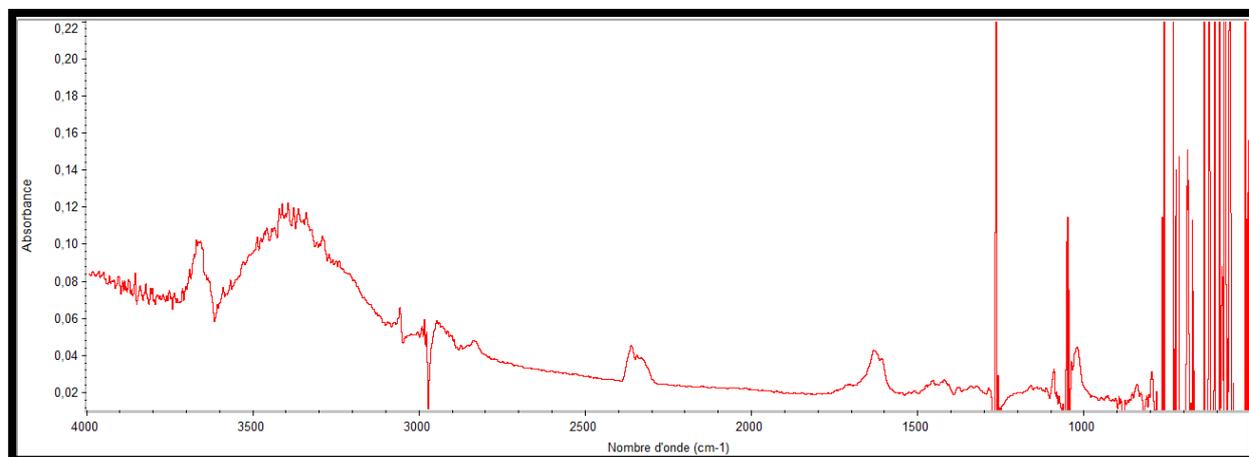


Figure 50 : Spectre ATR de l'échantillon PNM\_A.

**Tableau 28** : Analyse des échantillons réels par prédiction externe.

Composé	Echantillon / Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )		
	PNM_EO	PNM_EA	PNM_A
Acide Vanillique	15.76	5.38	6.46
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.00	0.25	0.00
Acide Salicylique	0.81	0.00	0.45

La quantification des échantillons réels par prédiction externe en sélectionnant l'application « Quantify » donne la quantité en différents étalons, établie dans la matrice de calibration et de validation, dans les échantillons réels Tableau 28 correspondant à 15.76 mg.mL<sup>-1</sup> en acide Vanillique, à 0.81 mg.mL<sup>-1</sup> en acide salicylique pour l'échantillon PNM\_EO à 5.38 mg.mL<sup>-1</sup> en acide Vanillique, à 0.25 mg.mL<sup>-1</sup> en acide *p*-hydroxybenzoïque pour l'échantillon PNM\_EA, à 6.46 mg.mL<sup>-1</sup> en acide Vanillique et à 0.45 mg.mL<sup>-1</sup> en acide salicylique pour l'échantillon PNM\_A.

**Tableau 29** : Résumé des paramètres les plus importants des meilleurs modèles PLS pour la détermination par IRTF de la calibration ciblée et de la prédiction des échantillons réels.

Composés	Régions spectrales (cm <sup>-1</sup> )	LV	RMSEC (mg.mL <sup>-1</sup> )	Coefficient de Corrélation R <sub>Cal</sub>	RMSEP (mg.mL <sup>-1</sup> )
Acide Vanillique	1 765-1 564	8	0.0303	0.9994	13.5
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	1 565-1 354 1 174-1 139	7	0.0863	0.9980	1.16
Acide Salicylique	891-844	7	0.0264	0.9999	2.19

**Tableau 30** : Analyse des échantillons réels par calibration ciblée.

Composé	Echantillon réel/ Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )		
	PNM_EO	PNM_EA	PNM_A
Acide Vanillique	31.34	6.30	16.38
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.00	0.00	2.00
Acide Salicylique	0.00	0.30	0.00

La calibration ciblée sur les échantillons réels, en choisissant les modèles représentés dans le Tableau 30 et en sélectionnant l'application « Target » est une prédiction interne des échantillons réels donnant des taux d'erreurs correspondant au RMSEP de 13.5 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'acide Vanillique (avec des concentrations calculés de 31.34 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'échantillon PNM\_EO, de 6.30 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'échantillon PNM\_EA, de 16.38 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'échantillon PNM\_A), de 1.16 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'acide *p*-hydroxybenzoïque (avec des valeurs calculés de 2.00 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'échantillon PNM\_A et l'absence d'acide *p*-hydroxybenzoïque dans les échantillon PNM\_EA et PNM\_EO) et de 2.19 mg.mL<sup>-1</sup> idem pour celle-là pour l'acide salicylique (avec des concentrations calculés de 0.30 mg.mL<sup>-1</sup> pour l'échantillon de PNM\_EA et l'absence de l'acide salicylique dans le PNM\_A et PNM\_EO).

**Tableau 31** : Comparaison entre analyse par prédiction externe et calibration ciblée.

Composé	Echantillon / Concentration (mg.mL <sup>-1</sup> )					
	PNM_EO		PNM_EA		PNM_A	
	Prédiction externe	Calibration ciblée	Prédiction externe	Calibration ciblée	Prédiction externe	Calibration ciblée
Acide Vanillique	15.76	31.34	5.38	6.30	6.46	16.38
Acide <i>p</i> -hydroxybenzoïque	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	2.00
Acide Salicylique	0.81	0.00	0.00	0.30	0.45	0.00

En comparant les résultats des deux tableaux 28 et 30, on s'aperçoit que l'acide vanillique est présent dans tous les échantillons, avec des concentrations différentes qui sont proche dans le PNM\_EA entre prédiction externe et calibration ciblé  $5.38 \text{ mg.mL}^{-1}$  et  $6.30 \text{ mg.mL}^{-1}$ , le double de la quantité dans le PNM\_EO  $15.76 \text{ mg.mL}^{-1}$  et  $31.34 \text{ mg.mL}^{-1}$  et deux fois et demi la concentration de la prédiction externe  $6.46 \text{ mg.mL}^{-1}$  pour la calibration ciblé  $16.38 \text{ mg.mL}^{-1}$ .

L'acide p-hydroxybenzoïque est absent dans le PNM\_EO, et le PNM\_EA par calibration ciblé, mais il présente une concentration de  $2.00 \text{ mg.mL}^{-1}$  par calibration ciblé dans le PNM\_A. L'acide salicylique ne présente aucune concentration dans le PNM\_EO et PNM\_A par calibration ciblé, mais il est présent en une petite quantité de  $0.30 \text{ mg.mL}^{-1}$  dans le PNM\_EA par calibration ciblé.

Les grignons d'olive présentent une teneur de 1.2 % de composés phénolique soluble dans du méthanol, dans cette fraction on y trouve les composés phénoliques, acide gallique, , tyrosol, acide caffeique, oleuropein, ligstroside aglycone, oleuropein aglycone,acide ferulique, et (l'acide salicylique, acide p-hydroxybenzoïque et l'acide vanillique) utilisé dans la simulation [67].

## Conclusion

Le *Piper nigrum L.*, connu sous le nom de poivre noir qui a mérité également la nomination de « Or noir » mais encore « le roi des épices » est une épice très utilisée qui renferme des vertus médicinales reconnues depuis l'antiquité jusqu'à aujourd'hui. Les pays leaders de la production sont l'Inde, l'Indonésie, le Cambodge, le Brésil et le Cameroun. La culture du poivre noir ne peut se faire que dans les régions où domine un climat tropical.

L'étude de la composition chimique du poivre noir montre qu'il comprend plus de 150 composés volatils et aromatiques, il est caractérisé par son parfum et son goût piquant, qui donne une sensation de pseudo chaleur causée par la pipérine. Ces caractéristiques rendent le poivre noir très précieux pour de nombreuses propriétés thérapeutiques différentes comme antioxydant, anticancéreuse et bien d'autres, rendant son utilisation non seulement dans le domaine pharmaceutique mais aussi cosmétique et parfumerie.

Comme cette épice a su s'imposer dans le marché mondial, la tentation est grande de frauder sur son poids ou sur son aspect, par exemple en y ajoutant des substances moins chères.

La qualité du poivre noir est déterminée par sa pureté et ses propriétés aromatiques et gustatives. Afin d'avoir la certitude sur son authenticité, seule des manipulations effectuées dans un laboratoire peuvent déterminer et certifier la qualité de ce dernier, les tests effectués déterminent la teneur de la pipérine et bien d'autres paramètres, ces critères sont regroupés sous différentes normes ISO, qui constituent entre autres des analyses physico-chimiques et spectroscopiques. Le travail acharné de chercheurs à travers le monde, consiste à développer et à optimiser des méthodes et techniques afin de faciliter le travail et démasquer les fraudes, pour protéger le consommateur.

A cause de la conjoncture actuelle liée à la pandémie du « COVID-19 », on n'a pas pu réaliser l'expérimental dans les laboratoires. Dans un but purement pédagogique et afin de renforcer la formation acquise, une simulation a été réalisée. Des logiciels intégrés au spectromètre IRTF 'Omic' et TQ Analyst en exploitant des spectres issus de la base de données spectrale de notre équipe ont été utilisés afin de procéder à des traitements spectraux pour effectuer des analyses quantitatives.

Comme le poivre noir est adulteré par l'ajout de grignons d'olives qui sont riches en acides phénoliques. La détermination du contenu de ces derniers peut être un indicateur de la falsification. Ainsi, une calibration monovariée et une PLS ont été réalisées et utilisées pour prédire et estimer ces adulterants dans des échantillons réels.

## Références

- [1] Roulier G, praticien ostéopathe, "Les huiles essentielles pour votre santé", conseil en phyto-aromathérapie et formateur.
- [2] Pham J, Thèse doctorat en pharmacie, 18 décembre 2007, Piper nigrum L. : aspects botaniques, chimiques et pharmacologiques, France.
- [3] S.Wilde A, Simon A, Haughey, Galvin-King P, T.Elliott C (2019), The feasibility of applying NIR and FT-IR fingerprinting to detect adulteration in black pepper, Food Control, p1.
- [4] Melissa, 21 Janvier 2014, [Todayifoundout.com/index.php/2014/01/brief-history-pepper/](http://Todayifoundout.com/index.php/2014/01/brief-history-pepper/)
- [5] [Terreexotique.fr/blog/quest-quun-poivre](http://Terreexotique.fr/blog/quest-quun-poivre).
- [6] Hequet, Le Corre, 2010, Statut pour la Nouvelle-Calédonie Hequet, V. & Le Corre, Révision du catalogue des plantes introduites de H.S. MacKee (1994). Rapport expertise, IRD, Nouméa, [Inpn.mnhn.fr/espece/cd\\_nom/447453/tab/taxo](http://Inpn.mnhn.fr/espece/cd_nom/447453/tab/taxo).
- [7] [Boutique-vegetale.com/p/poivre-noir-piper-nigrum](http://Boutique-vegetale.com/p/poivre-noir-piper-nigrum).
- [8] [Aromatiques.com/fr/plantes/252-poivrier.html](http://Aromatiques.com/fr/plantes/252-poivrier.html)
- [9] [Toildepices.com/?s=poivre+noir](http://Toildepices.com/?s=poivre+noir).
- [10] [Biologica.edu.ar](http://Biologica.edu.ar) Piper nigrum L. : Aspects botaniques, chimiques et pharmacologiques.
- [11] [Greenmeadowvn297.chiliweb.org](http://Greenmeadowvn297.chiliweb.org)
- [12] [boutique-vegetale.com/p/poivre-noir-piper-nigrum](http://boutique-vegetale.com/p/poivre-noir-piper-nigrum)
- [13] [61degres.com/ingredients/les-poivres-du-monde-part-1-introduction-sur-le-poivre/](http://61degres.com/ingredients/les-poivres-du-monde-part-1-introduction-sur-le-poivre/)
- [14] [rtbf.be/info/societe/onpdp/detail\\_le-poivre-l-une-des-epices-que-nous consommons-leplus?id=10090256](http://rtbf.be/info/societe/onpdp/detail_le-poivre-l-une-des-epices-que-nous-consommons-leplus?id=10090256)
- [15] [terreexotique.fr/blog/terres-de-poivres-piper-nigrum/](http://terreexotique.fr/blog/terres-de-poivres-piper-nigrum/)
- [16] [Le-poivre.com/conseil/difference-entre-poivre-noir-blanc-vert-et-rouge/](http://Le-poivre.com/conseil/difference-entre-poivre-noir-blanc-vert-et-rouge/)
- [17] [Kens-nursery.com](http://Kens-nursery.com)
- [18] Ulbricht C, Chao W, Costa D, Rusie-Seamon E, Weissner W, Woods J. 2008. Clinical evidence of herb-drug interactions: a systematic review by the natural standard research collaboration. *Curr Drug Metab* V9: p1063– 120.
- [19] Singh A, Rao A. 1993. Evaluation of the modulatory influence of black pepper (Piper nigrum, L.) on the hepatic detoxication system. *Cancer Lett* V72: p5–9.
- [20] Pradeep C, Kuttan G. 2002. Effect of piperine on the inhibition of lung metastasis induced B16F-10 melanoma cells in mice. *Clin Exp Metastasis* V19: p703–8.

- [21] Doucette CD, Hilchie AL, Liwski R, Hoskin DW. 2013. Piperine, a dietary phytochemical, inhibits angiogenesis. *J Nutr Biochem* V24: p231–9.
- [22] Tasleem F, Azhar I, Ali SN, Perveen S, Mahmood ZA. 2014. Analgesic and anti-inflammatory activities of *Piper nigrum* L. *Asian Pac J Trop Dis* V7: p461–8.
- [23] Patil UK, Singh A, Chakraborty AK. 2011. Role of piperine as a bioavailability enhancer. *Int J Recent Adv Pharmac Res* V4: p16–23.
- [24] K. Platel K. Srinivas, 2000, Influence of dietary spices and their active principles on pancreatic digestive enzymes, *food research Molecular nutrition*, V44, Issue1, p 42-46.
- [25] Mehmood M.H, Gilani A.H, 2010, Pharmacological Basis for the Medicinal Use of Black Pepper and Piperine in Gastrointestinal Disorders, *Journal of medicinal food* 13 V5: p86-96.
- [26] Intasar Husain Taqvi S, Shah A.J, 2009, Insight into the possible mechanism of antidiarrheal and antispasmodic activities of piperine, *Pharmaceutical Biology*,p 660-664.
- [27] [Healthline.com/nutrition/is-black-pepper-good-for-you#uses](https://www.healthline.com/nutrition/is-black-pepper-good-for-you#uses).
- [28] Durham, NC, 1994, Inhalation of vapor from black pepper extract reduces smoking withdrawal symptoms, V.A. Medical Center.
- [29] 2013, Piperine, a Bioactive Component of Pepper Spice Exerts Therapeutic Effects University of Illinois, USA.
- [30] The larvicidal effects of black peppe, University of the Witwatersrand, Johannesburg, South Africa.
- [31] McHUGH M., KRUKONIS V., 1986, *Supercritical Fluid Extraction, Principles and Practice*, Butterworths, Londre.
- [32] Reverchon E., De Marco I., 2006, Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter, *Journal of Supercritical Fluids*, 38: p146-166.
- [33] Bendicho C., Lavilla I., 2018, in *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*.
- [34] Pare J.R.J, Sigouin M, Lapointe J, 15 mai 1990, Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes, EP 398798.
- [35] Yang Yu, Siqi Hu, Duoqiao Fu, Xiaoxu Zhang, Hongqin Liu, Baocai Xu & Mingquan Huang, 2020, Surfactant-assisted enzymatic extraction of piperine from *Piper nigrum* L, *International Journal of Food Properties*.
- [36] Luque de Castro M.D , Garcí'a-Ayuso L.E, 1998, *Anal Chim.* V369, p 1-10.
- [37] Subramanian R., Noorul Ameen J., 2016, Double bypass Soxhlet apparatus for extraction of piperine from *Piper nigrum*, *Arabian journal of Chemistry*, V9, p S537-S540.

- [38] Dutta S., Bhattacharjee P., 2016, Modeling of supercritical carbon dioxide extraction of piperine from Malabar black pepper, *materialstoday proceedings*, 656/3252.
- [39] Sachin S. Rathod, 2014, Extraction of piperine from *Piper longum* using ultrasound, *Industrial Crops and Products*, p 259-264.
- [40] Olusegun Abayomi Olalere, Nour Hamid Abdurahman, 2018, Evaluation of optimization parameters in microwave reflux extraction of piperine oleoresin from black pepper, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Science*, V7, p 626-631.
- [41] Nile red, 2017, *edible chem, science et technologie*, Canada.
- [42] Codex Alimentarius, *normes Internationales alimentaires, normes pour le poivre noir, blanc, vert (poivre nbv) CXS 326-2017*.
- [43] Food Safety and standards authority of india (ministry of health and family welfare) FDA, *fssai*, New delhi 2015.
- [44] Kumar Singh N., Kumar P., 2011, UV-spectrophotometric method development for estimation of piperine, *Scholars Research Library*, 3 V3:178-182.
- [45] Nagar M., Ali Lane C., 2005, RP - HPLC Method for Determination of Piperine from *Piper longum* Linn and *Piper nigrum* Linn-*Journal of Chemistry* 2, p 131 -135.
- [46] Priyanka Borole, Urmi Patel, Smita R. Kolhe, 2011, Extraction and evaluation of piperine from *Piper Nigrum* Linn, Department of Pharmaceutics, Progressive Education Society's Modern College of Pharmacy Moshi, Pune- 412105. M.S. ISSN 0976-4550 *International journal of applied biology and pharmaceutical technology*, V2, Inde.
- [47] ASTA Analytical methods, method 12.1, 2018, Piperine Content of Black and White Pepper, Their Oleoresins and Soluble Pepper Seasonings.
- [48] Charles D.J. 2013. *Anioxydant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer Sciences, p 255.
- [49] Arvy M.P, Gallouin F., 2003, *Épices, aromates et condiments*, (416).
- [50] Cleyn et Verzele, 1972 ; Jagella et Grosch, 1999 ; Jennings et Wrolstad, 1961 ; Muller et al., 1968 ; Muller et Jennings, 1967 ; Nigam et Handa, 1964, Richard, 1970 ; Richard, 1974 ; Richard, 1991, Richard 1992, ; Richard et al., 1971 ; Richard et al., 1987 ; Russell et Jennings, 1969; Wrolstad et Jennings, 1962 et 1965), d'une revue bibliographique (Govindarajan, 1977) et d'une compilation dans l'ouvrage "Volatile compounds in Food (Nijssen et al., 1996).
- [51] Gopalakrishan et al., 1993 ; Nirmala Menon et al., 2000 ; Padmakumari et al., 2002 : Richard 1970, Richard et al., 1971 ; Russell et Else, 1973.

- [52] ROUATBI M., DUQUENOY A., GIAMPAOLI P., 2007. Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam. *J. Food Eng.*, 78, 708-714.
- [53] ORAV A., STULOVA I., KAILAS T., MÜÜRISEPP M., 2004. Effect of storage on essential oil composition of *Piper nigrum* L. fruits of different ripening states. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 2582-2586.
- [54] NIJSSEN L.M., VISSCHER C.A., MAARSE H., WILLEMSSENS L.C., BOELEN M.H., 1996. Volatile compounds. In *Food : qualitative and quantitative data, Spices and condiments - Pepper (Piper nigrum L.)* 38.1-38.9, Seven edition, TNO Nutrition and Food Research Institute, Zeist, Netherlands.
- [55] SCOTT I.M., PUNIANI E., JENSEN H., LIVESEY J.F., POVEDA L., SANCHEZ-VINDAS P., DURST T., ARNASON J.T., 2005. Analysis of Piperaceae germplasm by HPLC and LCMS : a method for isolating and identifying unsaturated amides from *Piper* spp extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 1907-1913
- [56] [Chemspider.com/Chemical-Structure](http://Chemspider.com/Chemical-Structure).
- [57] Kadri A., 2019. Mémoire de Master, Contrôle Qualité du Safran, Université Blida 1, Algérie.
- [58] Slate Afrique, 2012, Pourquoi les Algériens mangent du ciment, de la brique et de la peinture, El Watan.
- [59] Afrika business intelligence, 2017, du poivre noir mélange au ciment se vend a oran : la direction du commerce met en garde les citoyens, imerging afrika Réflexion, Algérie.
- [60] M.Casale, L.Bagnasco, 2016, Spectroscopic fingerprinting techniques for food characterisation, Univeristy of Genoa, Department of Pharmacy –Genova, Italy.
- [61] R.J. Barnes, M.S Dhanoa, S.J. Lister, 1989, Standard normal variate transformation and de trending of near-infrared diffuse reflectance spectra. *Applied Spectroscopy*.
- [62] R.I. Jenrich, in K. Enselein, A. Ralston, H.S. Wilf, 1960, Statistical Methods for digital computers, J. Wiley and Sons, New York.
- [63] R. Leardi, A.L. Gonzalez, 1998, Genetic algorithms applied to feature selection in PLS regression: how and when to use them, *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 195–207.

- [64] D. L Massart, B. G. M. Vandeginste, L. M. C Buydens, S. De Jong, P. L Lewi, J. Smeyers Verbeke, 1998, "Supervised pattern recognition" in, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B, vol. 20B, B.G.M. Vandeginste, & S.C. Rutan, Elsevier, Amsterdam, ,213-220.
- [65] H. Wold, "Partial Least Squares" in: S. Kotz, N.L. Johnson, (Eds.), 1985, Encyclopedia of Statistical Sciences, Wiley, New York, 581–591.
- [66] H. Ebrahimi-Najafabadi, R. Leardi, P. Oliveri, M.C. Casolino, M. Jalali-Heravi, S. Lanteri, 2012, Detection of addition of barley to coffee using near infrared spectroscopy and chemometric techniques, Talanta 99,175–179.
- [67] Chokri, Monem, Elleuch, 2002, École nationale d'ingénieurs de Sfax identification de nouveaux composés phénoliques présents dans les rejets liquides d'huileries d'olive (margines) dechets - revue francophone d'écologie industrielle - n° 27, Tunisie.
- [68] H. Hardesty, B. Attili, Collin, 2010, Spectrophotometry and the Beer-Lambert Law: An Important Analytical Technique in Chemistry Jon College Department of Chemistry.
- [69] O. Gotz, K. Liehr-Gobbers, M. Krafft, Evaluation of Structural Equation Models Using the Partial Least Squares (PLS) Approach.
- [70] K. Bollen, R. Lennox, 1991, Conventional Wisdom on Measurement: A Structural Equation Perspective, Psychological Bulletin.