

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université BLIDA I**  
**Faculté des Sciences**  
**Département de Chimie**



Mémoire Présenté par  
**Boumerzoug khadidja**

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

Domaine : Science de la matière  
Filière : Chimie  
Option : Chimie des Substances Naturelles

**Titre**

**Séparation et analyse des phénols simples dans les huiles  
essentielles par AFC-IRTF; Elaboration et exploitation  
d'une banque de données spectrales**

Soutenu publiquement en 28 juin 2016 devant le jury composé de :

O. Touafek	MCB	Président	Université de Blida I
Y. Daghbouche	Pr	Examinatrice	Université de Blida I
N. Bouzidi	MCB	Promotrice	Université de Blida I

**Promotion 2015-2016**

## *Remerciements*

Avant toute chose, je remercie "Allah", le tout puissant pour m'avoir donnée la force et la patience tout le long de mes études.

Je tiens, en toute premier lieu, à remercier Mme Y. Daghbouche, Professeur à l'université Saad Dahleb de Blida, pour son aide, ses conseils précieux, sa disponibilité et sa patience qui ont donné vie à ce travail et je suis très reconnaissante de tout ce qu'elle m'apporté tant du point du vue scientifique que du point du vue personnel.

Mes sincères remerciements à ma promotrice Mme N. Bouzidi pour les enseignements qu'elle m'a prodigué, pour son encadrement et sa gentillesse, pour les conseils apportés tout au long de ce travail et pour la confiance qu'elle m'a témoigné au cours des manipulations.

Je tiens à remercier Mme O. Touafek, pour l'honneur qu'elle ma fait en acceptant de présider le jury de soutenance.

J'adresse mes sincères remerciements à Mme Y. Daghbouche, qui ma fait l'honneur de juger ce travail.

J'adresse aussi mes sincères remerciements à tous les professeurs et les enseignants pour leurs efforts et encouragement le long de ce master.

Mes remerciements s'adressent aussi a tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, pour leur aide pendant notre travail de fin d'études dont certains par leurs conseils et leurs connaissances scientifiques, et d'autres par leurs soutiens et leurs présences dans les moments les plus pénibles.

## *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail :

Ames chers parents,

A mes chères sœurs et frères,

A toute ma famille,

A mes chères amies,

Et enfin, à tous mes amies et camarades chimistes  
de l'équipe « Chimie des Substances Naturelles »

## ملخص

تواصل دراستنا المساهمة في تطوير التطبيقات التحليلية النوعية والكمية لجهاز الأشعة تحت الحمراء ( IRTF ) و توفير أداة إضافية متوفرة، سهلة و سريعة التعامل معها للباحثين في مجال المواد الطبيعية.

استخدام نظام تحليل التدفق المستمر وبرامج التحكم في تشغيل هذا النمط من التحليل، لأول مرة في المخبر، تم بنجاح لتحديد مكونات الزيوت العطرية من مركبات الفينول.

تحديد مكونات الزيوت العطرية المتدفقة بشكل مستمر عبر العمود الصلب تم تنفيذها من قبل جهاز الأشعة تحت الحمراء ( IRTF )، و هذا باستغلال قاعدة البيانات الطيفية التي تم إنشاؤها.

مقارنة النسب التي حصل عليها بواسطة AFC-IRTF و CG-SM يعطي قيم متكافئة مشيرا إلى أن الطريقة التي تم تطويرها هادفة.

تحديد المكونات بواسطة الطريقة AFC-IRTF يعطي تحديد مماثل للطريقة CG-SM في الحالة التي يكون فيها المركب غالب في الزيت العطري.

**الكلمات المفتاحية :** الأشعة تحت الحمراء، التحليل في تدفق مستمر، الفينول، الزيوت العطرية، الداعم القوي، قاعدة البيانات الطيفية.

## Résumé

Notre étude vient contribuer au développement des applications analytiques qualitatives et quantitatives de la spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et offre un outil complémentaire disponible, facile à manipuler et rapide aux utilisateurs travaillant dans le domaine des substances naturelles.

La mise en marche d'un système d'analyse en flux continu (AFC) et l'exploitation des logiciels contrôlant ce mode d'analyse sont réalisés avec succès, pour la première fois au sein de notre laboratoire, pour la détermination de la teneur des phénols dans les huiles essentielles.

L'identification des composés des huiles essentielles séparées et éluées en continu à travers un support solide par spectrométrie IRTF, en exploitant la banque de données spectrale que nous avons créée est réalisée.

la comparaison des teneurs obtenues par spectrométrie IRTF et par CG-SM donne des valeurs comparables indiquant que la méthode développée est prometteuse.

La procédure AFC-IRTF développée donne une identification comparable à la CG-SM dans le cas où le composé se trouve majoritairement dans l'huile essentielle.

**Mots clés :** Spectrométrie IRTF, analyse en flux continu, phénols, huiles essentielles, séparation, banque de données spectrale.

## Abstract

Our study reaches contribute to the development of qualitative and quantitative analytical applications of infrared spectrometry Fourier transform (FTIR) and provides an additional available, easy to handle and quick tool for users in the field of natural substances.

The commissioning of a continuous flow analysis system and software controlling the operation of this mode of analysis are carried out successfully, for the first time in our laboratory to determine the content of phenols in essential oils.

The identification of separated and continuously eluted compounds of the essential oils through a solid support by FTIR spectrometry, by exploiting the spectral database that we created, is realized.

Comparing the tenor obtained by CFA-FTIR and CG-SM gives comparable values indicating that the developed method is promising.

The CFA-FTIR developed procedure give a similar identification to the CG-SM in the case where the compound is major in the essential oil.

**Keywords:** Spectrometry FTIR, continuous flow analysis, phenols, essential Oils, Separated, spectral database.

## *Liste des abréviations*

<b>IRTF :</b>	Infrarouge à transformée de Fourier
<b>NIR :</b>	Near infrarouge
<b>MIR :</b>	Moyen infrarouge
<b>FIR :</b>	Far infrarouge
<b>IR :</b>	Infrarouge
<b>UV :</b>	UltraViolet
<b>AFC :</b>	Analyse en flux continu
<b>EPS :</b>	Extraction en phase solide
<b>EPS-AFC :</b>	La combinaison de l'EPS avec la spectrométrie IRTF
<b>CG-SM :</b>	Couplage de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse
<b>BKG :</b>	background
<b>CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> :</b>	Dichlorométhane
<b>SiO<sub>2</sub></b>	l'adsorbant de gel de silice

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau 1</b>	Principales classes des composés phénoliques	<b>12</b>
<b>Tableau 2</b>	Propriétés physico-chimiques de trans anéthol, eugénol et la vanilline	<b>14</b>
<b>Tableau 3</b>	Rendements de récupération des trois phénols (trans anéthol, eugénol et vanilline) après élution en flux stoppé à travers l'adsorbant de gel de silice	<b>23</b>
<b>Tableau 4</b>	Paramètres caractéristiques des logiciels CHROM et Mesures multiples	<b>25</b>
<b>Tableau 5</b>	Valeurs d'absorbance en fonction de temps de mesure	<b>27</b>
<b>Tableau 6</b>	Coefficient de dispersion des trois phénols	<b>33</b>
<b>Tableau 7</b>	Rendement de récupération des trois phénols soient purs ou en mélange	<b>33</b>
<b>Tableau 8</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur les coefficients de dispersion	<b>34</b>
<b>Tableau 9</b>	Teneurs des phénols dans les huiles essentielles	<b>37</b>
<b>Tableau 10</b>	Principaux composés de différentes classes de terpènes	<b>39</b>
<b>Tableau 11</b>	Principaux composés de différentes classes phénoliques	<b>43</b>
<b>Tableau 12</b>	Principaux composés de la classe des acides gras	<b>45</b>
<b>Tableau 13</b>	Principaux composés de différentes classes d'hydrocarbures	<b>46</b>
<b>Tableau 14</b>	Liste des composés introduits dans la bibliothèque spectrale IRTF crée.	<b>49</b>

<b>Tableau 15</b>	Probabilité d'identification de chaque spectre du chemigramme de l'huile essentielle synthétique	<b>56</b>
<b>Tableau 16</b>	Composition chimique de l'huile essentielle synthétique par IRTF	<b>60</b>
<b>Tableau 17</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Clémentine</i> établie par IRTF	<b>61</b>
<b>Tableau 18</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Thym</i> par IRTF	<b>61</b>
<b>Tableau 19</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Clou de girofle</i> établie par IRTF	<b>61</b>
<b>Tableau 20</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cyprès</i> établie par IRTF	<b>61</b>
<b>Tableau 21</b>	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus</i> établie par IRTF	<b>62</b>
<b>Tableau 22</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Fenouil</i> établie par IRTF	<b>62</b>
<b>Tableau 23</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Genevrier</i> établie par IRTF	<b>62</b>
<b>Tableau 24</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Menthe</i> établie par IRTF	<b>62</b>
<b>Tableau 25</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Menthe poivrée</i> établie par IRTF	<b>63</b>
<b>Tableau 26</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Myrte</i> établie par IRTF	<b>63</b>

<b>Tableau 27</b>	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Oranger</i> établie par IRTF	<b>63</b>
<b>Tableau 28</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Pin d'alpe</i> établie par IRTF	<b>63</b>
<b>Tableau 29</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Lentisque</i> établie par IRTF	<b>64</b>
<b>Tableau 30</b>	Composition chimique de l'huile essentielle d' <i>Anis étoilé</i> établie par IRTF	<b>64</b>
<b>Tableau 31</b>	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Citron</i> établie par IRTF	<b>64</b>

## Liste des figures

<b>Figure 1</b>	Configuration typique d'un système d'analyse en flux continu AFC	5
<b>Figure 2</b>	Effet de la convection et la diffusion sur les profils de concentration d'analyte au niveau du détecteur : (a) pas de dispersion, (b) dispersion par convection, (c) dispersion par convection et diffusion radiale, (d) dispersion par convection et diffusion (radiale et	7
<b>Figure 3</b>	Représentation d'une cartouche EPS	9
<b>Figure 4</b>	Configuration typique d'un système d'analyse en flux continu par la combinaison EPS-IRTF	10
<b>Figure 5</b>	boite de dialogue de logiciel Mesures multiples	17
<b>Figure 6</b>	boite de dialogue de logiciel CHROM	18
<b>Figure 7</b>	Procédure générale de l'analyse quantitative des phénols dans les huiles essentielles	20
<b>Figure 8</b>	Spectres d'absorbance IRTF d'un mélange de l'eugénol, trans anéthol et la vanilline ( $10\text{mg.mL}^{-1}$ ) obtenus par dilution directe dans $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ (Rouge) et après élution à travers la cartouche de gel de silice en mode flux stoppé (Bleu) : (a) Spectres IRTF de $4000\text{-}800\text{ cm}^{-1}$ , (b) Spectres IRTF de $1750\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ .	22
<b>Figure 9</b>	(a).Montage d'analyse AFC utilisé habituellement (b).Montage d'analyse AFC modifié pour cette étude	24
<b>Figure 10</b>	Type d'informations affichées par le logiciel CHROM (a) et le logiciel Mesures multiples (b) : cas de Transe anéthol de concentration de $10\text{ mg.mL}^{-1}$	26

<b>Figure 11</b>	Chemigramme d'élution de Trans anéthol de 10mg.mL <sup>-1</sup> établi par EXCEL	28
<b>Figure 12</b>	Chemigramme globale affiché à partir la fenêtre Propriétés 3D	28
<b>Figure 13</b>	Chemigramme de trans anéthol à 967 cm <sup>-1</sup> intégré par la fenêtre Intégration et ensuite affiché à partir la fenêtre Propriétés 3D	29
<b>Figure 14</b>	Chemigrammes des trois étalons élués à travers l'adsorbant en flux continu : (a) Trans anéthol, (b) Eugénol, (c) Vanilline	30
<b>Figure 15</b>	Chemigrammes de trois phénols se trouvant en mélange à différentes concentrations (0.5, 2 et 10 mg.mL <sup>-1</sup> )	31
<b>Figure 16</b>	Droites de calibration des solutions étalons des 3 analytes éluées en flux continu : Trans anéthol, Eugénol et la vanilline	32
<b>Figure 17</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme de Trans anéthol à 967 cm <sup>-1</sup>	35
<b>Figure 18</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme de l'eugénol à 997 cm <sup>-1</sup>	35
<b>Figure 19</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme de la vanilline à 1690 cm <sup>-1</sup>	36
<b>Figure 20</b>	Etapas de la création d'une nouvelle bibliothèque spectrale	50
<b>Figure 21</b>	Etapas à d'introduction des spectres dans la nouvelle bibliothèque	51
<b>Figure 22</b>	Etape d'extraction des spectres IR à partir du chemigramme	53
<b>Figure 23</b>	Etape d'identification d'un spectre IRTF	54
<b>Figure 24</b>	Résultats affichés suite à la recherche d'identification	55

# *Table des matières*

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction générale

## *Chapitre I : Partie théorique*

<b>I</b>	Spectroscopie Infrarouge.....	<b>3</b>
<b>I.1</b>	Analyse qualitative.....	<b>4</b>
<b>I.1.1</b>	Identification d'un composé pur.....	<b>4</b>
<b>I.1.2</b>	Identification des constituants d'un mélange.....	<b>5</b>
<b>I.2</b>	Analyse quantitative.....	<b>5</b>
<b>II</b>	Analyse en flux continu (AFC).....	<b>6</b>
<b>II.1</b>	Introduction.....	<b>6</b>
<b>II.2</b>	Principe de la méthode d'analyse en flux continu (AFC).....	<b>6</b>
<b>II.3</b>	Détecteur.....	<b>8</b>
<b>III.</b>	Exploitation des cartouches d'EPS.....	<b>8</b>
<b>III.1</b>	Composantes de la cartouche d'extraction en phase solide EPS.....	<b>8</b>
<b>III.2</b>	Combinaison EPS-IRTF.....	<b>9</b>

IV.	Analyse par couplage de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (CG-SM)	11
V.	Huiles essentielles.....	11
V.1	Généralité.....	11
V.2	Composés phénoliques.....	12
V.2.1	Trans anéthol.....	13
V.2.2	Eugénol.....	13
V.2.3	Vanilline.....	14

## *Chapitre II : Séparation et dosage des phénols dans les huiles essentielles*

I.	Objectif .....	15
II.	Matériel et méthodes.....	15
II.1	Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	15
II.2	Réactifs.....	16
II.3	Choix des étalons et des huiles essentielles.....	16
II.4	Conditionnement des cartouches d'EPS.....	16
II.5	Modes d'analyse utilisés.....	16
II.5.1	Analyse en flux stoppé.....	16
II.5.2	Analyse en flux continu.....	17
II.5.2.1	Logiciel « Mesures multiples ».....	17
II.5.2.2	Logiciel « CHROM ».....	18
II.6	Procédure générale de l'analyse des composés phénoliques dans les huiles	19

	essentielle.....	
<b>III.</b>	Résultats et discussion.....	<b>21</b>
<b>III.1</b>	Test de l'efficacité du phénomène rétention-élution de l'adsorbant de gel de silice.....	<b>21</b>
<b>III.2</b>	Méthodologie de l'élution des analytes en flux continu.....	<b>23</b>
<b>III.2.1</b>	Etablissement de Background (la ligne de base zéro) pour l'analyse en flux continu.....	<b>23</b>
<b>III.2.2</b>	Comparaison entre les informations obtenues par les deux logiciels « CHROM » et « Mesures multiples » .....	<b>24</b>
<b>III.2.3</b>	Ordre d'élution des trois phénols.....	<b>29</b>
<b>III.2.4</b>	Relation entre la polarité et l'ordre d'élution.....	<b>31</b>
<b>III.3</b>	Détermination des paramètres analytiques du processus rétention-élution en mode AFC.....	<b>31</b>
<b>III.3.1</b>	Reproductibilité du processus rétention-élution en mode AFC.....	<b>31</b>
<b>III.3.2</b>	Coefficient de dispersion des analytes dans l'adsorbant.....	<b>32</b>
<b>III.4</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur le processus rétention-élution.....	<b>34</b>
<b>III.4.1</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur le coefficient de dispersion.....	<b>34</b>
<b>III.4.2</b>	Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme.....	<b>34</b>
<b>III.5</b>	Teneurs approximatives des phénols dans les huiles essentielles.....	<b>36</b>

***Chapitre III : Création et exploitation d'une banque de données spectrales pour l'identification des composés des huiles essentielles***

<b>I.</b>	Introduction.....	<b>38</b>
<b>II.</b>	Composition chimique des plantes.....	<b>38</b>
<b>II.1</b>	Composés terpéniques .....	<b>39</b>
<b>II.2</b>	Composés phénoliques .....	<b>43</b>

<b>II.3</b>	Acides gras.....	<b>45</b>
<b>II.4</b>	Hydrocarbures.....	<b>46</b>
<b>III.</b>	Création d'une bibliothèque spectrale IRTF.....	<b>48</b>
<b>III.1</b>	Spectres IRTF des étalons analysés au niveau de notre laboratoire.....	<b>48</b>
<b>III.2</b>	Spectres IRTF des étalons procurés de la littérature.....	<b>49</b>
<b>III.3</b>	Etapas de la création de la banque spectrale.....	<b>50</b>
<b>IV.</b>	Identification des composés des huiles essentielle.....	<b>51</b>
<b>IV.1</b>	Préparation des solutions des huiles essentielles.....	<b>52</b>
<b>IV.2</b>	Elution des huiles essentielles par AFC et identification par IRTF.....	<b>52</b>
<b>IV.3</b>	Etapas d'identification des composés des huiles essentielles.....	<b>52</b>
<b>IV.4</b>	Identification des composés de l'huile essentielle synthétique par spectroscopie IRTF.....	<b>56</b>
<b>IV.5</b>	Identification des composés des huiles essentielles par spectroscopie IRTF.....	<b>60</b>
	Conclusion générale.....	<b>65</b>
	Références bibliographique.....	<b>67</b>
	Annexe.....	<b>74</b>

## *Objectif du travail*

## Objectif du travail

Les extraits des plantes sont chimiquement des mélanges complexes de plusieurs composés ou parfois une classe de produit est prédominante ou même un produit de la classe peut être majoritaire dans la composition chimique.

L'analyse qualitative et/ou quantitative des produits des extraits des plantes présente une grande importance afin de pouvoir valoriser les plantes ou même de vérifier s'il existe des possibilités de différenciation entre les espèces.

Bien que la méthode de choix pour l'analyse des produits des extraits, basée sur le couplage de méthodes séparatives (CPG, HPLC, ....) et de méthodes d'identifications (SM, UV-vis,.....) est la plus adéquate et la plus utilisée, elle reste généralement indisponible au niveau des laboratoires de recherche travaillant dans le domaine des substances naturelles.

Devant cette situation, les chercheurs utilisent la chromatographie sur couche mince (CCM) pour l'identification préliminaire de certains produits de la matrice ou font appel à la chromatographie sur colonne pour la séparation des constituants d'un mélange et leur isolement pour leur postérieure analyse. Cependant, ces deux méthodes préparatoires restent laborieuses, nécessitent des quantités importantes de solvants et un temps de préparation assez long.

A cet effet, l'objectif principal de cette étude est le développement d'une nouvelle méthode d'analyse qualitative et quantitative des composés des huiles essentielles fournissant ainsi un outil complémentaire disponible, facile à manipuler et rapide aux utilisateurs travaillant dans les domaines des substances naturelles. La méthode développée exploite d'un côté les avantages de la séparation en continu des analytes à travers un adsorbant solide et d'un autre côté le potentiel de la spectroscopie IRTF par l'exploitation des bandes d'absorbance spécifiques.

Le contenu de ce mémoire est subdivisé en trois chapitres :

Le premier chapitre présente une partie théorique générale sur les connaissances de bases de cette étude.

Le deuxième chapitre comporte une partie expérimentale basée sur la séparation de différents composés phénoliques à travers un adsorbant solide de type  $\text{SiO}_2$  placé dans des cartouches d'EPS et la détection en continu de ces composés par spectrométrie IRTF. Dans cette partie deux principaux objectifs sont atteints pour la première fois au sein de notre laboratoire, le premier concerne la mise en marche d'un système d'analyse en flux continu (AFC) et le deuxième l'exécution des deux logiciels « Mesure multiple » et « CHROM » permettant le suivi rapide de la totalité du spectre IRTF en temps réel de l'élution des constituants.

Le troisième chapitre est dédié à une étude qualitative des composés des huiles essentielles. Dans ce chapitre, nous avons réalisé deux parties, nous avons commencé par regrouper la majorité des produits chimiques des plantes qui appartiennent à la même classe chimique, puis nous avons créé une banque de données spectrales IRTF de quelques composés (selon la disponibilité) existant dans les plantes. Et nous avons développé une procédure d'identification des huiles essentielles.

Enfin, une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus est présentée.

## I. Spectroscopie Infrarouge

Une molécule ayant un moment dipolaire d'oscillation, à la suite de son mouvement de vibration ou de rotation, peut absorber un rayonnement infrarouge avec une longueur d'onde allant de 14000 à 10  $\text{cm}^{-1}$ . Lorsque la fréquence du rayonnement correspond à une fréquence naturelle de la vibration de la molécule, un transfert net d'énergie a lieu, ce qui entraîne un changement de l'amplitude de la vibration moléculaire, et l'absorption du rayonnement.

A quelques exceptions près (les molécules symétriques et monoatomiques), pratiquement toutes les espèces moléculaires présentent une absorption infrarouge. L'infrarouge analytique regroupe plusieurs méthodes d'identification et de dosage non destructif basé sur l'étude de l'absorption (ou la réflexion), par l'échantillon. Des radiations électromagnétiques comprises entre 14000 et 10  $\text{cm}^{-1}$ , cette bande spectrale est elle-même divisé en trois parties : proche (NIR 14000 à 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), moyen (MIR de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ ) et lointain (FIR de 300 à 10  $\text{cm}^{-1}$ ). La partie la plus riche en information est celle du moyen IR [1].

La spectroscopie infrarouge est très répandue dans la recherche académique et dans l'industrie en tant que technique simple et sûre de mesure et de contrôle de qualité.

Afin de séparer les longueurs d'onde, il est nécessaire de moduler la source de signal et le faire passer à travers l'échantillon d'une manière telle qu'il puisse être enregistré comme un interférogramme. L'interférogramme est ensuite décodé par transformée de Fourier : une opération mathématique qui est commodément effectuée par l'ordinateur qui fait désormais une partie intégrante de tous les spectromètres.

En se calant sur une fréquence spécifique dans le temps, les modifications dans les propriétés ou la quantité d'une liaison particulière peuvent être mesurées. Cela peut se faire dans le même temps que d'autres mesures par d'autres techniques, ce qui permet l'observation de réactions et processus chimiques de manière plus rapide et plus précise.

Les spectromètres à transformée de Fourier offrent les avantages d'une grande sensibilité, la résolution et la vitesse d'acquisition des données (données pour un spectre entier peuvent être obtenues en une seconde ou moins). Les instruments d'analyse ne contiennent aucun élément de dispersion, et toutes les longueurs d'onde sont détectées et mesurées simultanément en utilisant un interféromètre de Michelson.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier IRTF (Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)) permet une analyse qualitative et quantitative pour les échantillons organiques et inorganiques en trois modes d'analyse : batch, flux stoppé et flux continu.

Les instruments d'acquisition sont maintenant miniaturisés et donc transportables, même pour des usages en extérieur. Avec l'accroissement des technologies informatique de traitement des résultats, les échantillons en solution peuvent maintenant être mesurés précisément. Certains instruments possédant leurs propres bases de données, l'identification peut ainsi également être automatisée.

### I.1 Analyse qualitative

Chaque composé chimique possède son propre spectre IR. Ainsi, les composés chimiques qui ont des structures très voisines peuvent avoir des spectres assez différents « empreinte digitale ». Un spectre d'absorption infrarouge, même pour un composé relativement simple, contient souvent un nombre important de pics. Ces pics sont utiles pour l'identification des groupes fonctionnels qui sont situés dans la région de plus courte longueur d'onde dans l'infrarouge moyen (entre 4000 et 400  $\text{cm}^{-1}$ ), où les positions des bandes ne sont que faiblement affectés par le squelette carboné de la molécule. Cette région du spectre abonde ainsi des informations relatives à la structure globale de la molécule étudiée. Des tableaux donnant des bandes caractéristiques des groupes fonctionnels communs sont disponibles sur les documents scientifiques et même dans les logiciels des spectrophotomètres IR [2].

L'identification des groupes fonctionnels dans une molécule est insuffisante pour identifier complètement le composé (pur ou en mélange), et l'ensemble du spectre doit être comparée à celle des composés connus. Les collections de spectres sont disponibles pour ce but sous forme des bases de données spectrales.

#### I.1.1 Identification d'un composé pur

De nombreux spectres de références sont maintenant à la disposition du chimiste dans des catalogues ou des banques de données à des fins comparatives. On parvient ainsi souvent à identifier une substance inconnue grâce à son seul spectre IR.

Les développements de l'interférométrie et de l'informatique ont, d'autre part, permis d'automatiser le travail de comparaison des spectres. Ainsi, il existe chez les constructeurs de

spectromètres des banques de données informatisées plus ou moins volumineuses, gérées par des logiciels de recherche. Ces logiciels effectuent une comparaison numérique du spectre inconnu avec chacun des spectres de la banque de données. Cependant, il est important de vérifier le résultat par la comparaison visuelle des spectres proposés avec celui de l'échantillon inconnu avec les spectres proposés.

### **I.1.2 Identification des constituants d'un mélange**

Le spectre de vibration d'un mélange est, en première approximation, la superposition des spectres des composants.

Dans certains cas, l'indentification des divers composants peut s'effectuer directement en superposant les spectres des corps purs ou en exploitant les bandes spécifiques des différents constituants. Les méthodes informatiques ne conduisent généralement qu'au spectre du mélange. Pour des mélanges très complexes, il faudra faire appel à une méthode de préparation. Il existe actuellement des spectromètres couplés avec un chromatographe qui permettent directement ce traitement.

Dans tous les cas il faut se méfier des interactions soluté - soluté et soluté - solvant qui peuvent perturber le spectre de certains constituants (liaison hydrogène, équilibre conformationnels...). L'analyse devra alors porter sur la comparaison des vibrateurs "peu sensibles" à ces interactions. Les effets soluté - solvant peuvent être pris en compte en comparant le spectre du mélange à celui du constituant en solution dans le même solvant. Dans le cas des solutions, le premier travail consistera à soustraire le spectre du solvant pour faire apparaître le spectre du ou des solutés.

### **I.2 Analyse quantitative**

Bien que la sensibilité de cette technique reste 100 fois plus faible que celle de la spectrométrie UV-Visible, les mesures ont également trouvé une utilisation croissante dans l'analyse quantitative en raison de la richesse des spectres, l'étroitesse des bandes d'absorption et du développement des instruments infrarouges [3]. Les études quantitatives peuvent être monovariabiles basées sur l'utilisation de la loi de Beer-Lambert qui établit une relation mathématique entre le rayonnement infrarouge absorbé et la concentration des espèces à déterminer ou multivariabiles basées sur l'exploitation des logiciels de modélisation.

## II. Analyse en flux continu (AFC)

### II.1 Introduction

Une configuration typique d'un système AFC présenté sur la figure 1 montre l'introduction d'un volume défini de l'échantillon S dans un flux continu d'un liquide. Ce dernier est dirigé à travers le tube R vers le détecteur D. Ensuite, il est envoyé vers le déchet. Une pompe péristaltique a été utilisée pour assurer un débit fixe. La sortie analogique est de forme d'un chemigramme qui à l'ature d'un pic, H est la hauteur de pic, T est le temps d'éluion correspondant à la mesure de la hauteur du pic et A est l'intensité de signal de la sortie du détecteur, la hauteur et la surface du pic sont proportionnelles à la concentration de l'analyte.

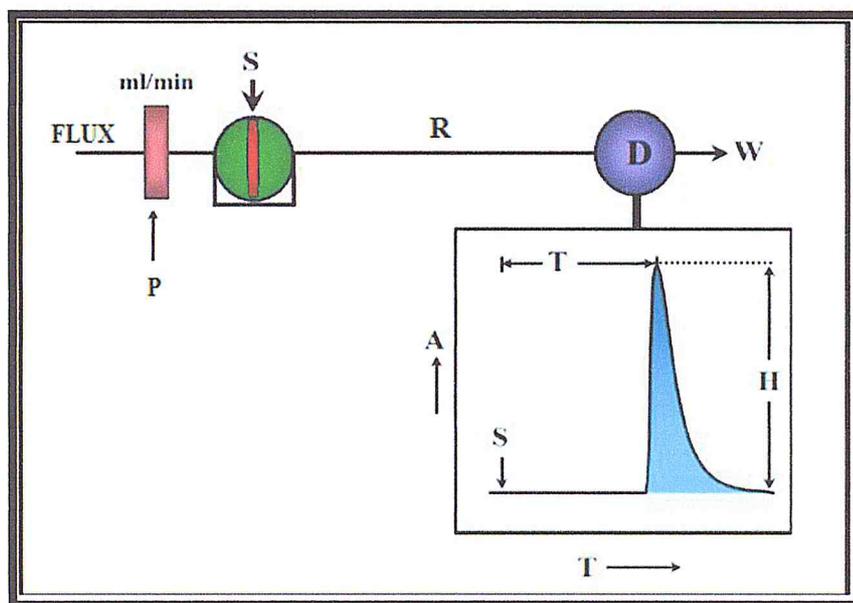


Figure 1 : Configuration typique d'un système d'analyse en flux continu AFC

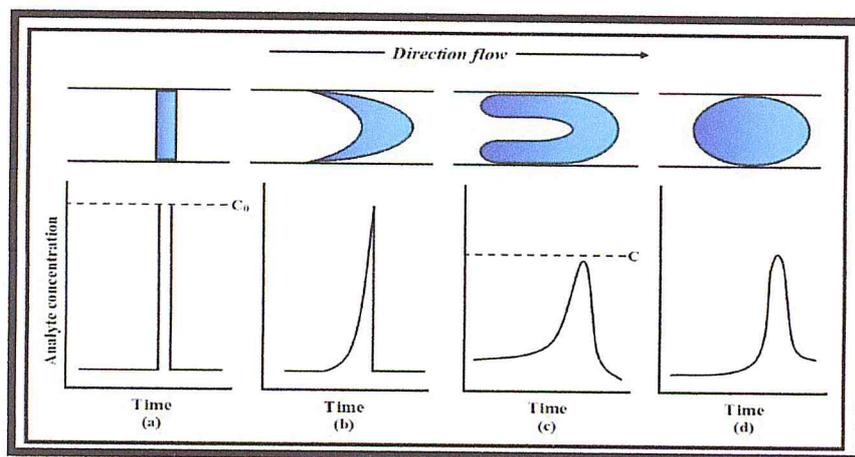
### II.2 Principe de la méthode d'analyse en flux continu (AFC)

Une courbe obtenue par la méthode AFC est due à deux processus : l'un implique un processus physique de la dispersion de la zone du courant porteur, l'autre implique le processus chimique, s'il y a lieu, résultant de la réaction entre l'échantillon et les réactifs. Une différence dans le gradient de concentration est ainsi générée.

La zone de profil de concentration de l'échantillon est de forme rectangulaire représentée sur la figure (2a). Quand l'échantillon il se déplace à travers le tube, la bande s'élargie et la dispersion a lieu. La forme de la zone résultante est déterminée par deux

phénomènes : Le premier est la convection résultant de l'écoulement laminaire dans lequel le centre du fluide se déplace plus rapidement que le liquide au voisinage des parois, créant ainsi le front de forme parabolique et le profil de la zone déviée avaient montré sur la figure (2b).

L'élargissement se produit également à la suite de la diffusion. Deux types de diffusion peuvent, en principe, se produire : Une diffusion radiale (perpendiculaire) à la direction d'écoulement, et une diffusion longitudinale (parallèle) à l'écoulement. La diffusion radiale est plus importante car la dispersion radiale à partir des murs vers le centre est la fonction importante de la libération essentielle de l'analyte [4].



**Figure (2) :** Effet de la convection et la diffusion sur les profils de concentration d'analyte au niveau du détecteur : (a) pas de dispersion, (b) dispersion par convection, (c) dispersion par convection et diffusion radiale, (d) dispersion par convection et diffusion (radiale et

La dispersion est définie comme l'intensité du signal chimique qui est réduit par l'écoulement de l'échantillon dans un système AFC. Ceci est représenté mathématiquement par la relation suivante :

$$D = C_{\text{Pur}} / C_{\text{AFC}}$$

Où D est le coefficient de dispersion donné par le rapport entre la  $C_{\text{Pur}}$ , la concentration d'un produit pur lors de son analyse direct, et la  $C_{\text{AFC}}$ , la concentration de ce même produit lors de son passage à travers le système AFC vers le détecteur.

Le coefficient de dispersion fournit un moyen de vérification et de contrôle de l'étendue de la dilution de l'échantillon de manière reproductible lorsqu'il se déplace à travers

les différents tubes en un temps bien contrôlé vers le détecteur [6]. De ce fait, l'analyste a un contrôle complet sur la mesure de la dispersion de l'échantillon ou de la dilution qui se produit lorsque l'échantillon passe à travers le système AFC.

### II.3 Détecteur

Le choix d'un détecteur pose les problèmes classiques de linéarité, répétabilité, sensibilité, spécificité. Les caractéristiques des détecteurs couplés avec la méthode AFC ne sont pas, sur le principe, différentes de celles des détecteurs de la chromatographie en phase liquide et on peut aussi se rapporter aux nombreux ouvrages qui traitent ce problème [7]. Toutefois, depuis son introduction, la plupart des méthodes spectrométriques et électrochimiques d'analyse ont trouvé leur application en tant que détecteur dans un système AFC [8-17].

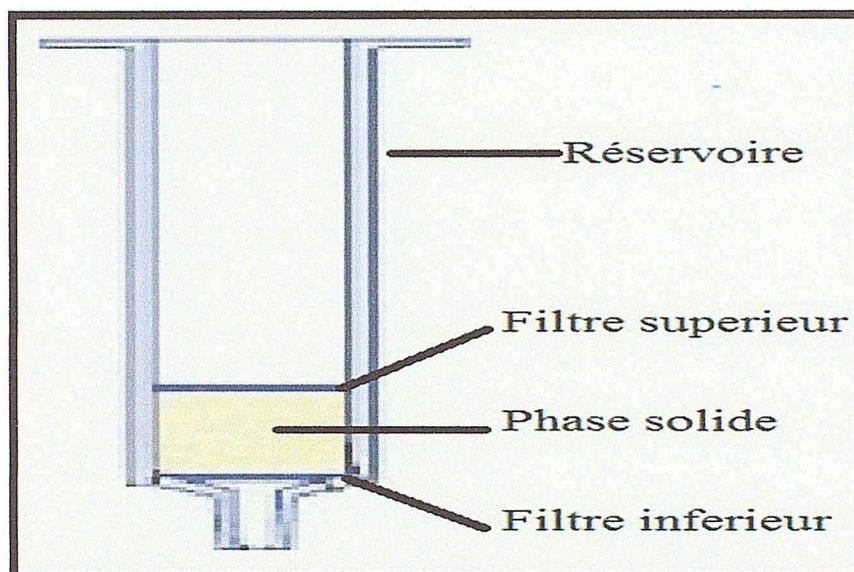
La spectrométrie IRTF comme un mode de détection dans les systèmes AFC donne les avantages suivants [18]:

- Le suivi rapide de la totalité de spectre.
- Haute résolution dans une large zone de nombres d'onde.
- Nombreuses bandes peuvent être utilisées pour la détermination d'un seul ou plusieurs composés dans le même échantillon.
- Détection simultanée de plusieurs composés.
- Possibilité d'élimination des interférences de deux bandes qui se chevauchent par l'utilisation du spectre dérivé.

## III. Exploitation des cartouches d'extraction en phase solide (EPS)

### III.1 Composantes de la cartouche d'EPS

La cartouche d'EPS est un dispositif constitué de colonne courte (généralement une seringue ouverte) remplie entre les filtres par un adsorbant (phase stationnaire) (figure3). Ces cartouches sont couramment utilisées dans les laboratoires d'analyse pour l'extraction des analytes se trouvant dans des matrices complexes. L'extraction intervient soit par rétention de la substance recherchée et élimination des autres corps présents par le lavage, soit par rétention des substances interférentes et élution du produit visé.



**Figure 3 :** Représentation d'une cartouche EPS

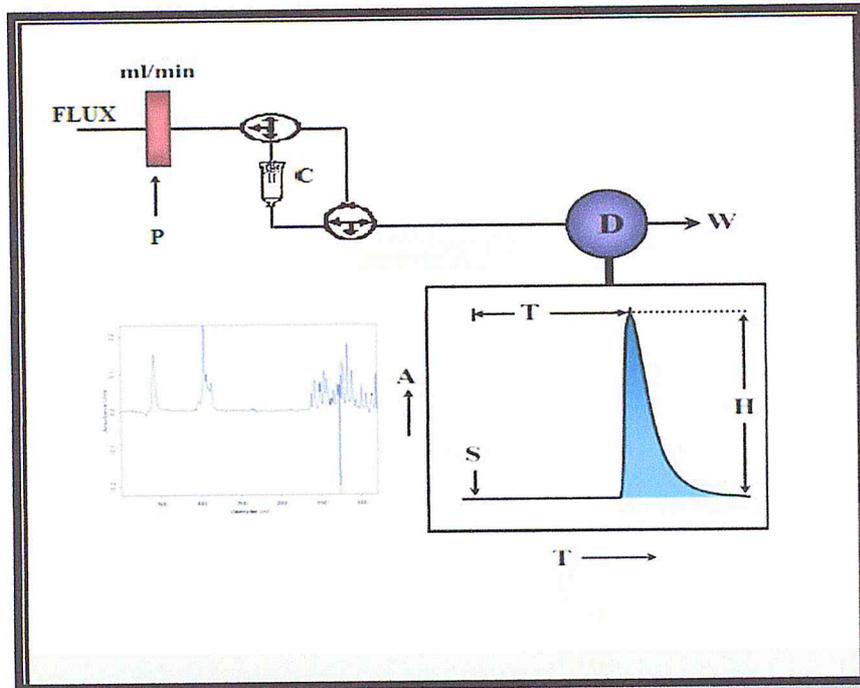
Son émergence est particulièrement liée aux réglementations sur les solvants organiques mais aussi au fait que l'extraction liquide-liquide longtemps utilisée, ne peut être appliquée à l'extraction de composés polaires qui ont peu d'affinité pour ces solvants. Son évolution a été facilitée par la commercialisation de phases très diverses dédiées à des composés et à des matrices très variées soutenue par une évolution rapide des formats disponibles (cartouches de différentes capacités, disques, plaques à 96 puits), ainsi que des automates adaptés à ces différents formats.

### III.2 Combinaison EPS-IRTF

La combinaison de l'EPS avec la spectrométrie IRTF peut se faire en trois modes différentes : flux stoppé, flux continu et automatisation du système.

1) L'analyse en flux stoppé : Consiste à charger les cartouches, les sécher, si nécessaire, pour éliminer l'eau et les éluer avec un volume de solvant fixe et passer enfin à l'analyse de la solution obtenue.

2) L'analyse en flux continu : Consiste à charger les cartouches à part puis intégrer la cartouche dans le montage d'analyse pour une élution en continu (figure 4).



**Figure 4 :** Configuration typique d'un système d'analyse en flux continu par la combinaison EPS-IRTF

3) L'analyse en mode automatisé : Qui peut être effectué avec divers degrés d'automatisation, les quatre étapes individuelles d'une séquence d'EPS en continu sont : (1) le conditionnement de l'adsorbant, (2) le chargement de l'échantillon, (3) le séchage et/ou le rinçage de l'échantillon, et (4) la désorption et la récupération des analytes. L'automatisation peut être réalisée de manière séquentielle de plusieurs cartouches en même temps. La séquence peut également être facilement automatisée avec des appareils maintenant disponibles par plusieurs entreprises qui utilisent des formats de cartouches ou d'extraction par disque commerciales.

Il y a lieu de noter que le système d'exploitation de traitement des spectres doit être muni d'un logiciel permettant le contrôle de l'analyse en continu ou automatisé. Ce logiciel n'est pas automatiquement intégré dans le système d'exploitation, et il faut le commander pour l'avoir comme option.

#### **IV. Analyse par couplage de la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (CG-SM)**

La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse sont des techniques qui ont connu des développements historiques très différents.

C'est en 1941, que Martin et Synge, mentionnèrent pour la première fois la possibilité d'utiliser un gaz comme phase mobile dans un système chromatographique [19]. Il a fallu attendre 1952 pour que soient présentés les premiers résultats de séparation par chromatographie en phase gazeuse des gras libres [20].

Cette technique analytique a connu un développement fulgurant mais il s'est avéré très vite qu'il est difficile, sinon impossible, d'identifier les composés d'un mélange complexe par CPG. Un détecteur dont la réponse serait différente et spécifique pour chacun des composés séparés est nécessaire. Un tel détecteur existait bien avant que la CPG soit décrite : c'était le spectromètre de masse dont les origines remontent à 1918 (travaux de Dempster et Aston) [21,22]. La fragmentation des molécules lors d'un bombardement sous vide par des électrons d'énergie contrôlée puis la séparation des ions ainsi formés selon leur rapport masse / charge dans un tube analyseur, constituent le principe de base de la spectrométrie de masse. Il est devenu donc possible d'identifier un par un les composés séparés par CPG grâce au couplage avec le spectromètre de masse.

Le premier couplage CG-SM fut réalisé en 1957 par Holmes en suède ; depuis des progrès spectaculaires ont été réalisés et se poursuivant pour aller vers une simplification de l'interface [23].

Le couplage CG-SM constitue une technique robuste très largement utilisée qui est caractérisée par une bonne sensibilité et une grande spécificité pour les classes d'analytes appropriées [24].

## V. Huiles essentielles

### V.1 Généralité

Les huiles essentielles sont des substances odorantes, huileuses, volatiles, incolores ou jaunâtres, inflammables, s'altérant facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont ordinairement liquides à la température ambiante, et n'ont pas le caractère gras et onctueux des huiles fixes, au toucher [25].

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » [26].

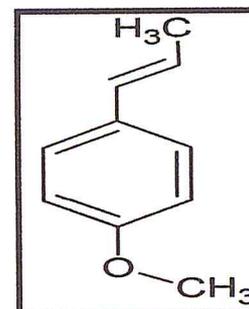
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Anthocyanes</li> <li>• Flavanols</li> <li>• Flavanones</li> </ul>	Cyanidine, pélargonidine Catéchine, épicatechine Naringénine	fruits, fruits rouges, pomme, raisin, citrus
	Isoflavonoïdes	Daidzéine	soja, pois
$(C_6-C_2)_2$	Lignanes	Pinorésinol	Pin
$(C_6-C_2)_n$	Lignines		Bois, noyau des fruits
$(C_{15})$	Tannins		Raisin rouge, kaki

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plante avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (allélopathie), entre les plantes et les symbioses [32].

Dans notre étude, on a considéré trois phénols simples: le trans anéthol, l'eugénol et la vanilline.

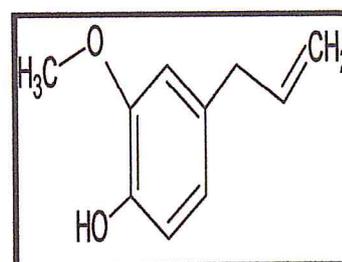
### V.2.1 Trans anéthol

Le trans anéthol c'est un composé organique, éther aromatique insaturé se présente sous forme de cristaux blancs à température ambiante, à l'état liquide est incolore. L'anéthol donne son goût à l'anis, au fenouil et à l'anis étoilé, le goût ressenti est agréable et clairement sucré. Il est légèrement toxique et peut être irritant en grande quantité.



### V.2.2 Eugénol

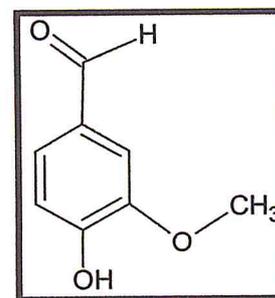
L'eugénol est un composé aromatique dérivé de la voie de biosynthèse du phénylpropéné, généralement, il est extrait du cinnamon en tant que produit mineur, et de clous de girofle majoritaire [33]. C'est un phénol autorisé par la FDA (Food And Drug Administration) comme ingrédient alimentaire.



L'eugénol est beaucoup utilisé en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local [34, 36].

### pV.2.3 Vanilline

La vanilline est le composé aromatique principale de la vanille. Elle est obtenue par extraction ou par synthèse. La vanille présente sous forme d'aiguilles blanche fondant à 80-84 °c et bouillante à 285 °C. Sa solubilité dans l'eau est de 1 % a froid et de 5 % à 78 °c. Elle est très soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et les huiles [37].



Le tableau 1 récapitule quelques propriétés physico-chimiques des composés phénoliques considérés dans ce travail.

**Tableau 2:** Propriétés physico-chimiques de trans anéthol, eugénol et la vanilline

Composé phénolique	Nom IUPAC	Formule brute	Masse molaire g.ml <sup>-1</sup>	Temperature d'ébullition °C	Masse volumique g.cm <sup>-3</sup>
Trans anéthol	Trans-1-méthoxy-4-(prop-1-enyl) benzène	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148	234	1.066
Eugénol	2-methoxy-4-(2-propényl)-phénol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	164	253	0.99
vanilline	4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	152	285	1.05

## *Chapitre II*

Séparation et dosage des phénols dans les huiles  
essentielles

## I. Objectif

Le dosage des produits des huiles essentielles des plantes présente une grande importance afin de pouvoir valoriser les plantes ou même de vérifier s'il existe des possibilités de différenciation entre les espèces.

Du fait que les huiles essentielles sont constituées de plusieurs produits chimiques, les techniques chromatographiques sont de nos jours les plus utilisées pour identifier et quantifier ces produits [38].

A cet effet, l'objectif principal de ce travail est le développement d'une nouvelle méthode disponible, facile à manipuler et rapide aux utilisateurs travaillant dans le domaine des substances naturelles. La méthode est basée sur la séparation de différents composés phénoliques à travers un adsorbant solide de type  $\text{SiO}_2$  placé dans une cartouche d'EPS et la détection en continu de ces composés par spectrométrie IRTF permettant le suivi rapide de la totalité du spectre en temps réel.

Dans ce travail, différentes huiles essentielles, préparées et commerciales, diluées dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  sont analysées. Les produits Trans anéthol, eugénol et vanilline ont été choisis comme standards représentent la classe des phénols simples.

Les deux logiciels « Mesures multiples » et « CHROM », permettant le suivi de l'analyse en continu, ont été testés, exécutés et comparés pour la première fois au sein de notre laboratoire.

## II. Matériel et méthodes

### II.1 Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque Bruker type Tensor 27, équipé d'un détecteur sulfate triglycine deutéré DTGS à température ambiante, d'une source infrarouge moyen ( $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ ), d'un rayonnement de Laser et un diviseur de faisceau KBr a été utilisé. Le traitement des spectres est réalisé avec le logiciel OPUS 6.5 sous le système d'exploitation Microsoft Windows XP.

Les fenêtres utilisées pour l'analyse de liquide sont en Fluorure de Baryum ( $\text{BaF}_2$ ) avec un chemin optique de 0.1 mm, les tubes de connections utilisés sont en téflon avec un

diamètre intérieur de 0.8 mm et le chargement est réalisé en employant des tubes de chlorure de polyvinyle de diamètre intérieur de 2.79 mm.

## II.2 Réactifs

Les étalons et le solvant utilisés sont de grade analytique. Toutes les solutions utilisées dans cette étude sont préparées avec le dichlorométhane stabilisé avec l'amylène.

## II.3 Choix des étalons et des huiles essentielles

Comme application à notre étude une série de trois phénols simples qui peuvent être présents dans les huiles essentielles à savoir : le trans anéthol, l'eugénol et la vanilline sont choisis.

Des huiles essentielles qui sont préparées au sein de notre laboratoire de chimie de substances naturelles ou procurées de l'unité d'extraction des huiles essentielles « Extral Bio » de la région de chiffa, Willaya de Blida, ont été analysées par la méthode développée.

## II.4 Conditionnement des cartouches d'EPS

Des cartouches de capacité de 3 ml d'adsorbant solide de type de gel de silice (60 mesh) pouvant contenir jusqu'à 500 mg d'adsorbant sont utilisées. Afin que le processus rétention-élution soit efficace, la phase solide doit être préalablement conditionnée avec deux fois 1.5 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

## II.5 Modes d'analyse utilisés

Dans cette étude le logiciel OPUS permet deux modes d'analyse à savoir :

### II.5.1 Analyse en flux stoppé

La solution à analyser est introduite directement vers la cellule de flux en mode flux stoppé. Le système d'écoulement est effectué en utilisant une pompe péristaltique, le flux est stoppé momentanément une fois la cellule est remplie. On obtient le spectre et on rétablit le flux pour rincer la cellule avec le solvant et la remplir à nouveau avec une autre solution, dans ce cas un nombre de scan=5 est considéré.

## II.5.2 Analyse en flux continu

300  $\mu\text{L}$  de la solution sont introduites dans la cartouche d'EPS qui est intégrée dans le système d'analyse en flux continu, une fois la mesure est terminée par l'élution complète de l'analyte le flux est stoppé. Dans ce cas on a diminué le nombre de scan (=1) pour ne pas perdre l'information avec le cumule de spectres.

Dans cette étude deux logiciels ont été exploités pour contrôler l'analyse en flux continu à savoir : « Mesures multiples » et « CHROM ».

### II.5.2.1 Logiciel « Mesures multiples »

Le logiciel OPUS est constitué d'une fonction d'analyse en flux continu, intitulée « Mesures multiples » qui est intégrée automatiquement dans le système d'exploitation. La boîte de dialogue du logiciel « Mesures multiples » (figure 5) affiche deux listes de sélection : (a) nombre total de mesures (répétition de la mesure) et (b) délai écoulé entre la mesure de deux spectres consécutifs.

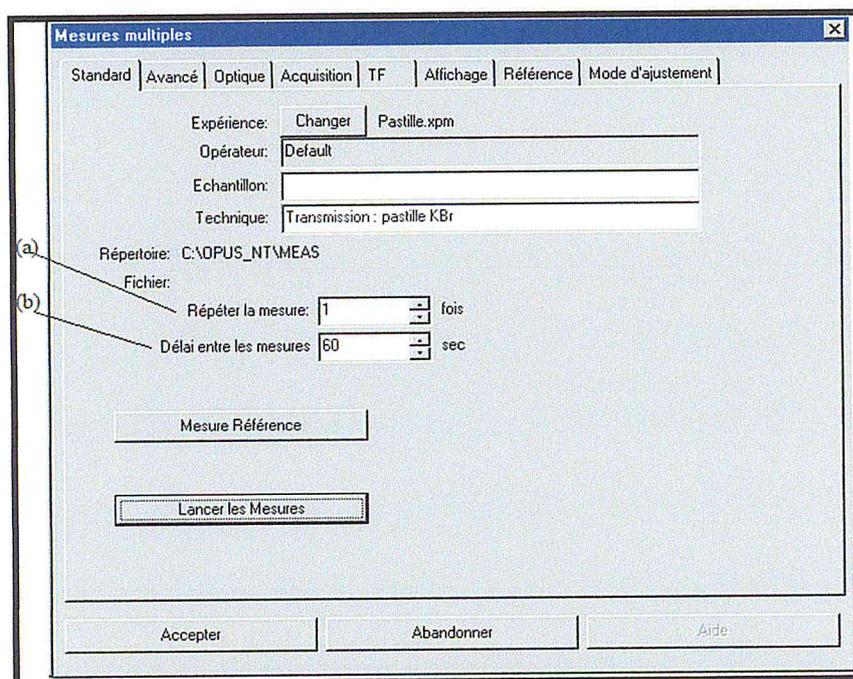
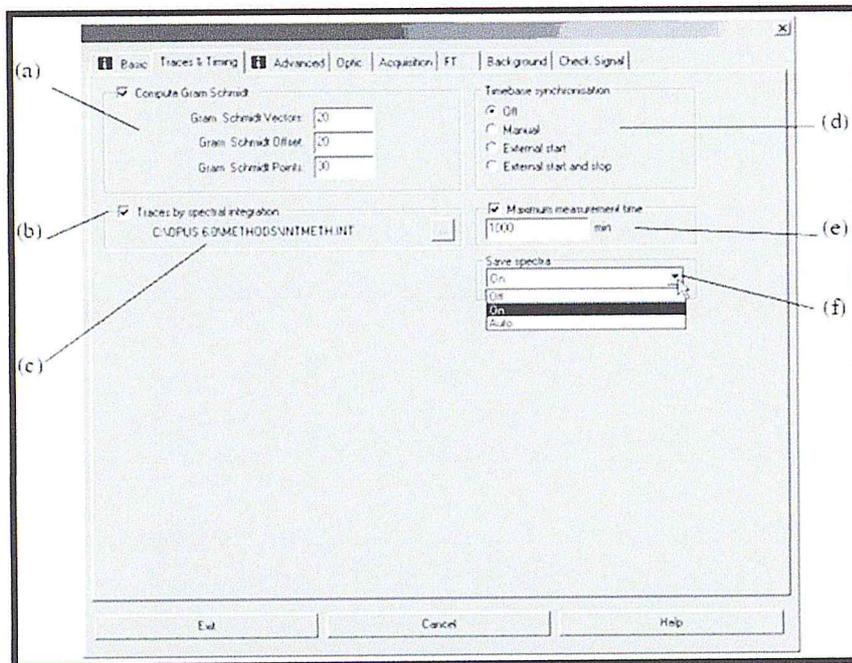


Figure 5: boîte de dialogue de logiciel Mesures multiples

### II.5.2.2 Logiciel « CHROM »

Le logiciel « CHROM » est une option qui n'est pas automatiquement intégré dans le système d'exploitation, il faut le commander pour l'avoir, ce logiciel permet de suivre les processus dépendant de temps, comme les techniques couplées avec la spectrométrie IRTF (par exemple : CG-IR et HPLC-IR). En outre, il peut être utilisé pour acquérir les modifications spectrales pendant un processus cinétique, à condition que ce dernier ne passe pas trop vite.

La boîte de dialogue de logiciel « CHROM » (figure 6) affiche les sélections suivantes :



**Figure 6 :** boîte de dialogue de logiciel CHROM

**a)** Paramètres de chemigramme (« en anglais Gram Schmidt », Une courbe donnant l'absorbance en fonction du temps et chaque point du chemigramme représente un spectre IRTF)

Ces paramètres déterminent la façon dont les données de référence sont utilisées. Ils affectent la sensibilité de la trace calculée.

**b)** Traces par intégration spectrale

Les chemigrammes peuvent éventuellement être calculés en intégrant les spectres. Pour ce faire, on coche la case.

c) Méthode d'intégration : La méthode d'intégration actuellement sélectionnée est affichée avec la possibilité de la changer. La méthode d'intégration doit être mise en place à l'avance en sélectionnant l'intégration à partir de la fonction OPUS dans le menu « Évaluation ».

d) Temps de lancement de l'analyse :

- Auto : La mesure commence immédiatement après l'acquisition des interférogrammes de base du chemigramme.
- Démarrage manuel : Une fois les interférogrammes de base du chemigramme acquis, un message apparaît, demandant la confirmation du démarrage de la mesure CHROM.
- Démarrage externe : Une fois les interférogrammes de base de chemigramme acquis, le système attend un signal externe pour démarrer la mesure.
- Démarrage externe et d'arrêt : Une fois les interférogrammes de base de chemigramme acquis, le système attend un signal externe pour démarrer la mesure. Le système arrête la mesure automatiquement dès que le signal externe disparaît.

e) Le Temps maximal de la mesure

L'activation de cette case permet de fixer un temps de fonctionnement maximum (en minutes). Après cette période, la mesure s'arrête automatiquement.

f) Enregistrement du chemigramme

La liste déroulante contient les options suivantes : On, Off et Auto.

## II.6 Procédure générale de l'analyse des composés phénoliques dans les huiles essentielles

L'organigramme de la figure 7 résume la méthodologie globale de l'analyse des phénols dans les huiles essentielles en utilisant la détection IRTF des produits élués en continu à travers l'adsorbant solide de gel de silice.

La comparaison des valeurs d'absorbance obtenues par deux modes d'analyse différents permet la détermination des paramètres analytiques (rendement de récupération, coefficient de dispersion...) d'évaluation du processus rétention-élution.

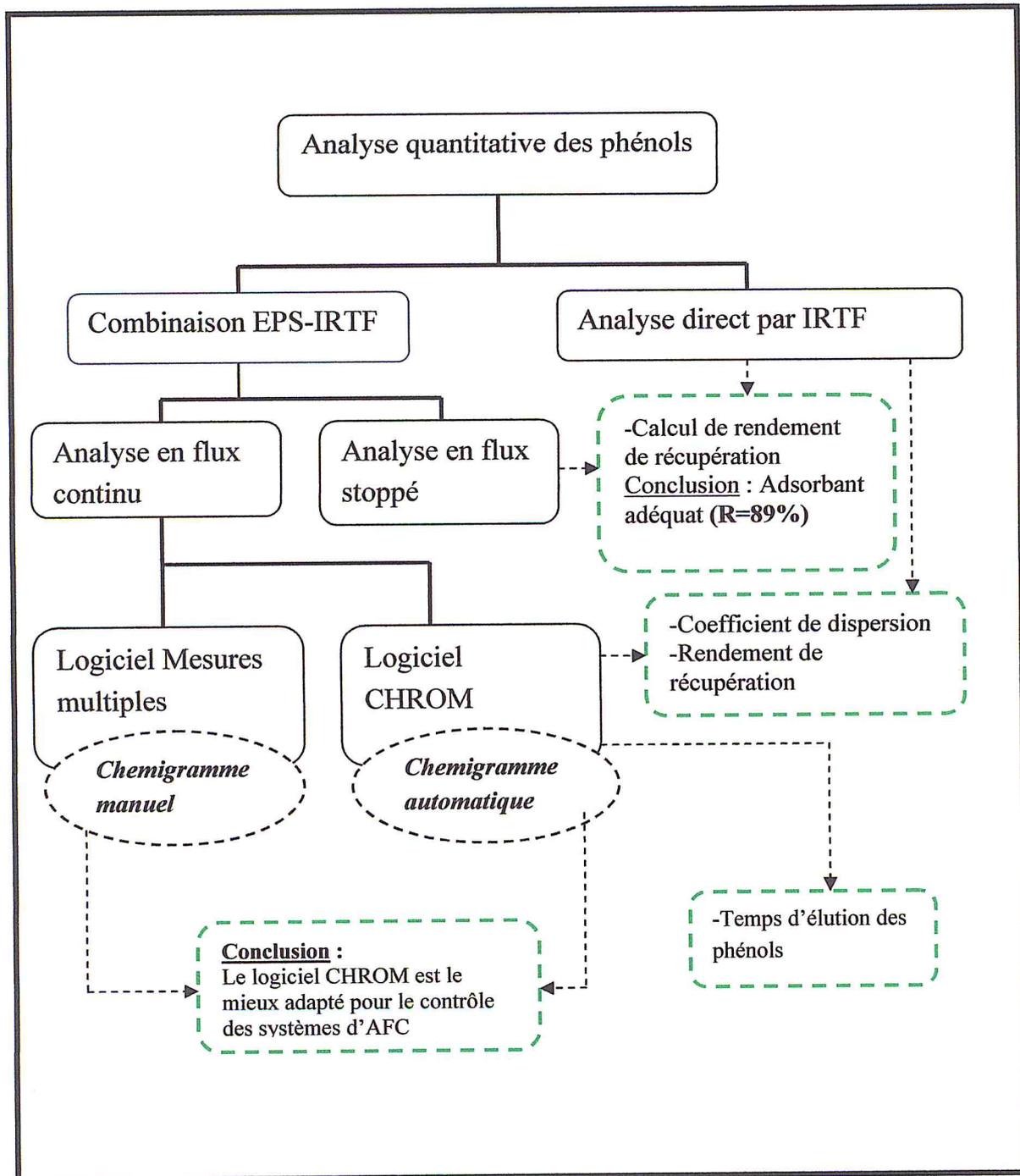


Figure 7 : Procédure générale de l'analyse quantitative des phénols dans les huiles essentielles

### III. Résultats et discussion

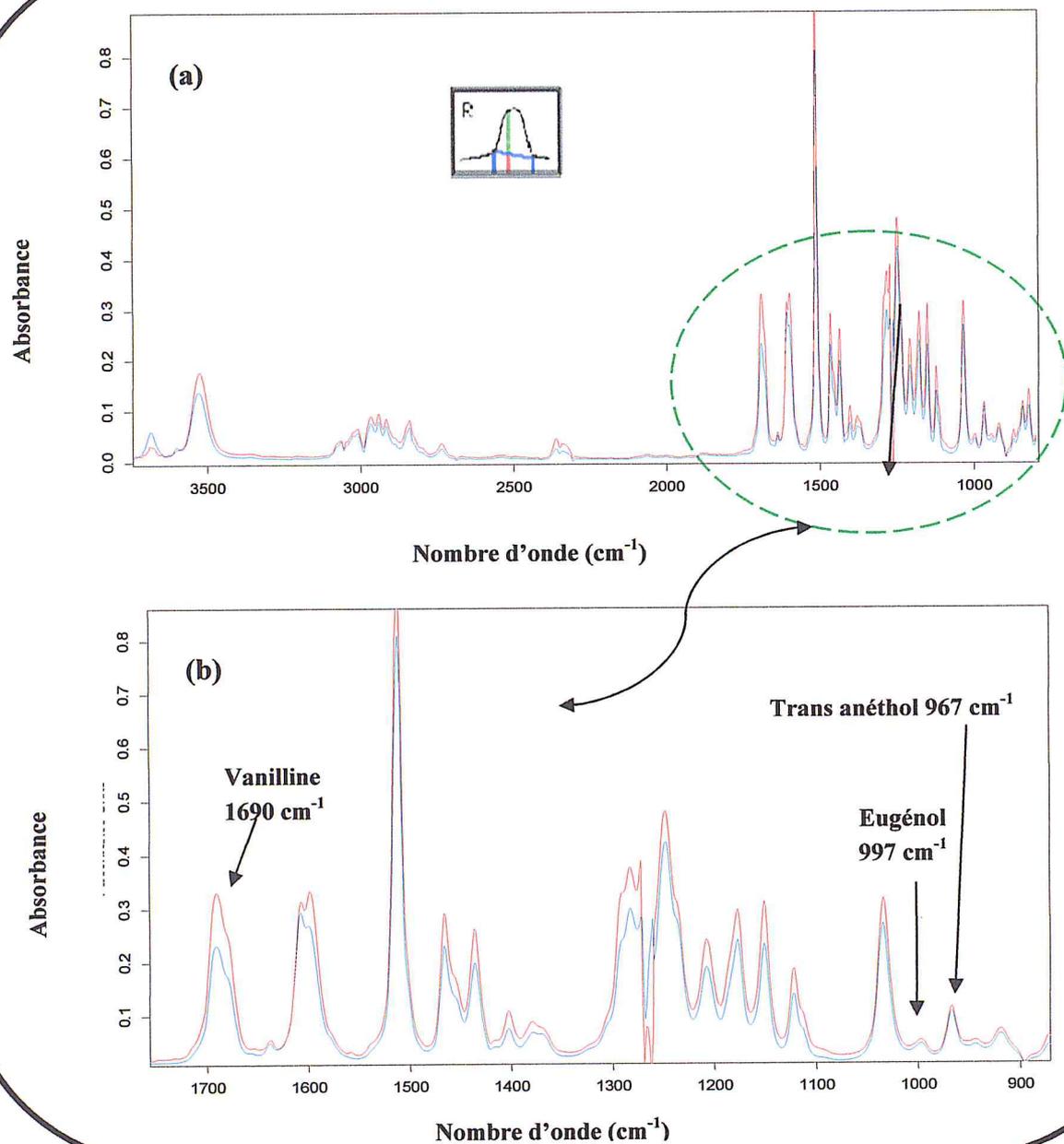
#### III.1 Test de l'efficacité du phénomène rétention-élution de l'adsorbant de gel de silice

Afin de tester l'efficacité du processus rétention-élution de l'adsorbant de gel de silice ( $\text{SiO}_2$ ), utilisé dans cette étude, le rendement de récupération est calculé. Ce dernier est calculé par le rapport entre l'absorbance des analytes passés à travers le support solide de  $\text{SiO}_2$  et élués en mode flux stoppé et l'absorbance des analytes préparés directement dans le  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Cette expérience est établie avec un mélange de solutions étalons de phénols simples (trans anéthol, eugénol et vanilline) de concentration  $10 \text{ mg.ml}^{-1}$  en utilisant des cartouches d'EPS contenant  $500 \text{ mg}$  de  $\text{SiO}_2$  et en exploitant les bandes spécifiques de chaque étalon en mode d'intégration R comme résumé ci-dessous.

- Trans anéthol  $967 \text{ cm}^{-1}$  (corrigé avec la ligne de base comprise entre  $986$  et  $951 \text{ cm}^{-1}$ ).
- Eugénol  $997 \text{ cm}^{-1}$  (corrigé avec la ligne de base comprise entre  $1012$  et  $980 \text{ cm}^{-1}$ ).
- Vanilline  $1690 \text{ cm}^{-1}$  (corrigé avec la ligne de base comprise entre  $1724$  et  $1655 \text{ cm}^{-1}$ ).

La figure 8 illustre l'allure des spectres IRTF d'un mélange de trois phénols obtenus par dilution directe dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et après élution des étalons à travers le support solide en mode flux stoppé.



**Figure 8 :** Spectres d'absorbance IRTF d'un mélange de trans anéthol, eugénol et vanilline (10 mg.mL<sup>-1</sup>) obtenus par dilution directe dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Rouge) et après élution à travers la cartouche de gel de silice en mode flux stoppé (Bleu) : (a) Spectres IRTF de 4000-800 cm<sup>-1</sup>, (b) Spectres IRTF de 1750-900 cm<sup>-1</sup>.

Les rendements de récupération sont calculés par la formule :

$$R(\%) = \frac{100 \times A_{fs}}{A_d}$$

- $A_{fs}$  : Absorbance mesuré après élution des étalons à travers la cartouche de gel de silice en mode flux stoppé.
- $A_d$  : Absorbance des étalons dilués directement dans  $CH_2Cl_2$ .

**Tableau 3 :** Rendements de récupération des trois phénols (trans anéthol, eugénol et vanilline) après élution en flux stoppé à travers l'adsorbant de gel de silice

Etalon	Absorbance corrigé		Rendement de récupération (%)
	$A_d$	$A_{fs}$	
Trans anéthol	0.075	0.074	98,7
Eugénol	0.016	0.016	100
Vanilline	0.298	0.207	69

Les résultats de tableau 3 montrent que le gel de silice est un adsorbant efficace permettant une récupération quantitative des trans anéthol et d'eugénol avec un rendement de récupération de l'ordre de 99.35%. Par contre, dans le cas de la vanilline la récupération est de l'ordre de 69%. Ce taux faible est probablement dû à la nature chimique de l'adsorbant. La vanilline étant plus polaire que les deux autres analytes, elle traîne dans la cartouche d'EPS de gel de silice provoquant la diminution du rendement de récupération. De ce fait une étude d'optimisation liée au type de phase solide s'impose.

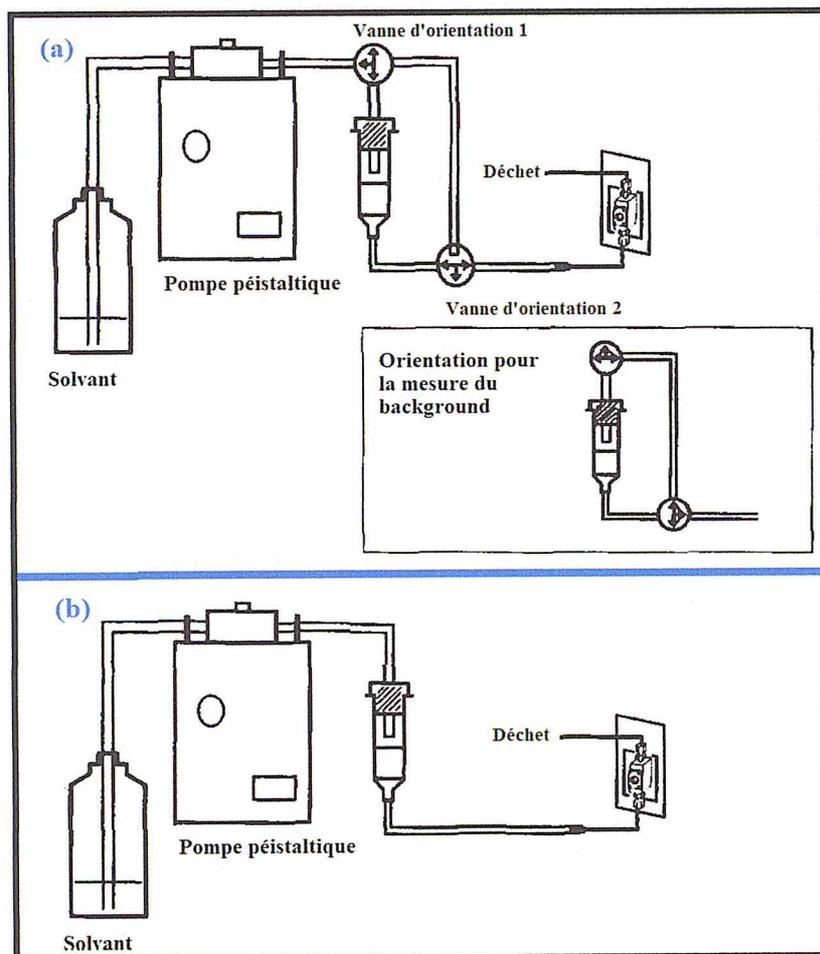
### III.2 Méthodologie de l'élution des analytes en flux continu

#### III.2.1 Etablissement de Background (la ligne de base zéro) pour l'analyse en flux continu

Avant de lancer une mesure par spectrométrie IRTF il faut toujours commencer par l'établissement du background. La figure 9(a) illustre le système d'analyse AFC utilisé habituellement nécessitant deux vannes d'orientation de flux afin de choisir l'acheminement du solvant pour établir le background ou pour éluer les cartouches EPS.

Vu l'indisponibilité des vannes pour la réalisation de cette étude, le montage modifié de la figure 9(b) a été utilisé pour pouvoir éluer les analytes en flux continu sans être obligé

d'arrêter la pompe. Pour cela, on a exploité une option qu'offre l'OPUS permettant d'enregistrer un background dans les mêmes conditions expérimentales et de le rappeler par la suite pour n'importe quelle analyse.



**Figure 9 :** (a).Montage d'analyse AFC utilisé habituellement  
(b).Montage d'analyse AFC modifié pour cette étude

### III.2.2 Comparaison entre les informations obtenues par les deux logiciels « CHROM » et « Mesures multiples »

Le tableau 4 indique la différence entre les paramètres caractéristiques donnés par le logiciel « CHROM » et le logiciel « Mesures multiples ». La figure 10 illustre le type d'informations affichées par chaque logiciel.

Tableau 4 : Paramètres caractéristiques des logiciels CHROM et Mesures multiples

Paramètres Caractéristiques de l'analyse	Logiciel CHROM	Logiciel Mesures multiples
Disponibilité	Option qu'il faut demander et acheter	Intégré dans le système d'exploitation
Début et fin d'analyse	Temps total de mesure	nombre de spectres
Temps entre les mesures des spectres IRTF	Par défaut	fixé par l'opérateur
Temps d'enregistrement d'un spectre	Donné par le logiciel	Calculé par l'opérateur
Chemigramme	Etabli par le logiciel	Etabli par l'opérateur
Fenêtre montré (figure12)	Spectres IRTF et chemigramme	Spectres IRTF
Informations affichée	Suivi de l'absorbance en temps réel	Obtention de $A=f(t)$ ultérieur
Temps d'analyse des résultats	Rapide	Lente

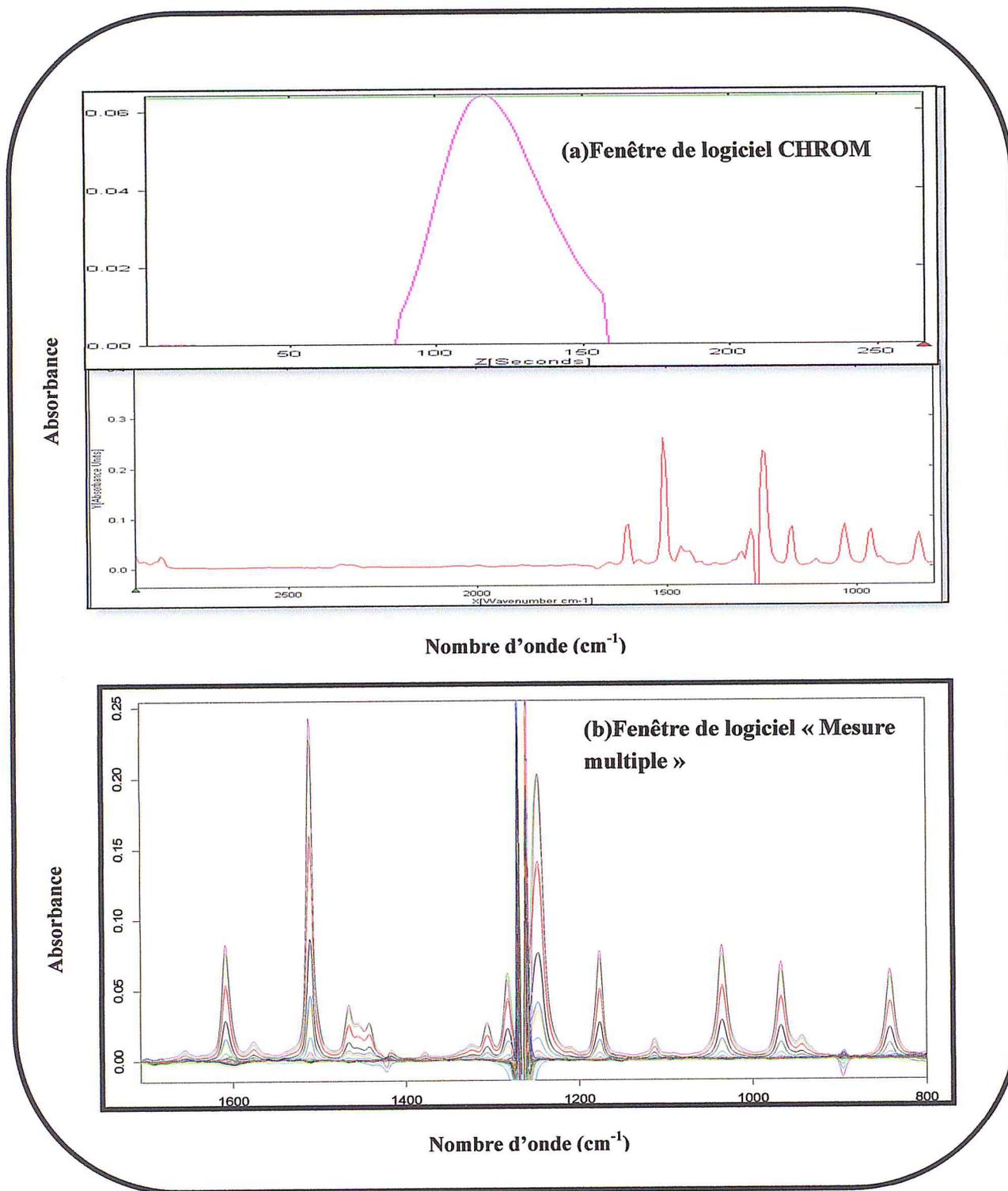


Figure 10 : Type d'informations affichées par (a) le logiciel « CHROM » et (b) le logiciel Mesures multiples: cas de Trans anéthol de concentration de 10 mg.ml<sup>-1</sup>

En utilisant le logiciel « CHROM », le chemigramme est affiché en temps réel et obtenu directement à la fin de l'analyse. Pour le logiciel de Mesures multiples on le trace via le logiciel EXCEL.

Nous présentons dans cette étude un seul exemple pour illustrer la différence pratique entre les deux logiciels et nous proposons les étapes d'obtentions du chemigramme du trans anéthol :

a) Etapes d'obtention du chemigramme via le logiciel « Mesures multiples » :

Le chemigramme des spectres IRTF obtenus via le logiciel « Mesures multiples » est établi manuellement selon les quatre étapes suivantes :

**Etape 1** : Elution de  $10 \text{ mg.ml}^{-1}$  en flux continu et l'enregistrement d'une série de 41 spectres consécutifs avec une fréquence d'un spectre chaque 10 secondes;

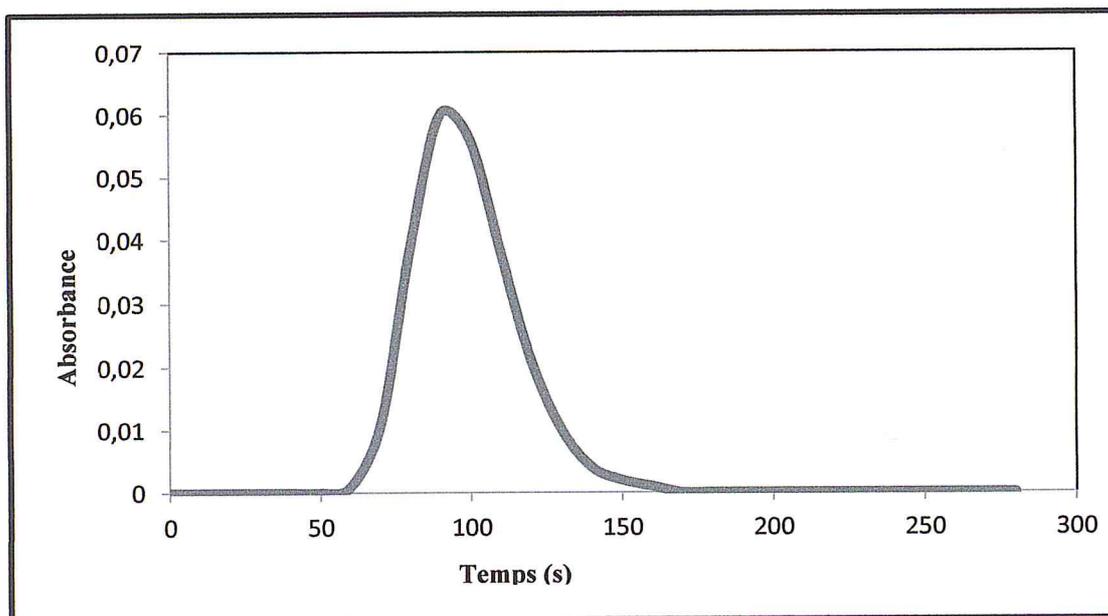
**Etape 2** : Intégration des spectres de la série en utilisant la bande spécifique à  $967\text{cm}^{-1}$ , corrigée avec une ligne de base adéquate;

**Etape 3** : Exportation des valeurs d'absorbances vers le logiciel EXCEL, où la 1<sup>ère</sup> colonne représente le temps d'élution et la 2<sup>ème</sup> représente l'absorbance maximale de l'analyte (tableau 5) ;

**Tableau 5** : Valeurs d'absorbance en fonction de temps de mesure

T(Secondes)	Absorbance	T(Secondes)	absorbance	T(Secondes)	absorbance
0	0	140	0.004	280	0
10	0	150	0.002	290	0
20	0	160	0.001	300	0
30	0	170	0	310	0
40	0	180	0	320	0
50	0	190	0	330	0
60	0.001	200	0	340	0
70	0.011	210	0	350	0
80	0.039	220	0	360	0
90	0.060	230	0	370	0
100	0.056	240	0	380	0
110	0,038	250	0	390	0
120	0.021	260	0	400	0
130	0.010	270	0	410	0

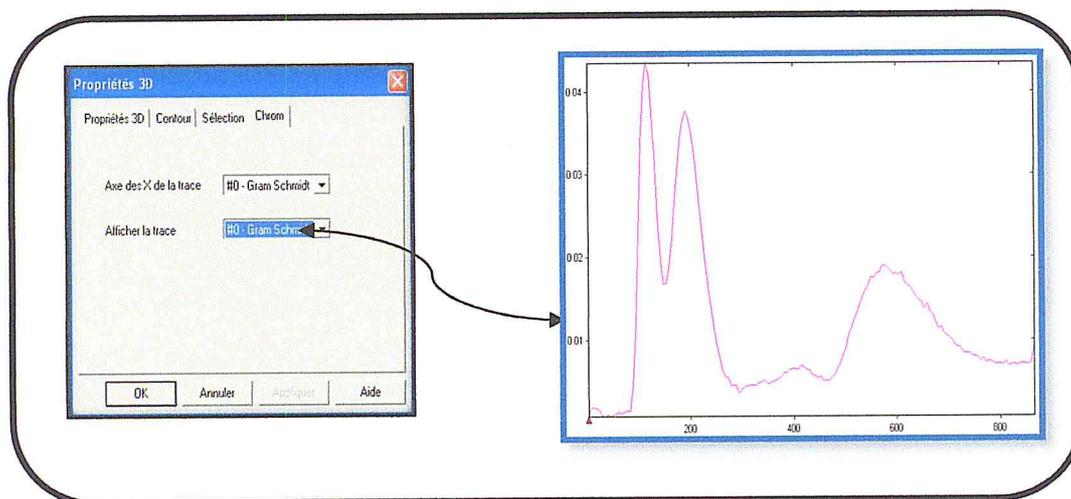
**Etape 4 :** Etablissement du chemigramme en considérant l'option « Insertion » nuage de points (figure 11).



**Figure11 :** Chemigramme d'élution de trans anéthol de  $10 \text{ mg.mL}^{-1}$  établi par EXCEL

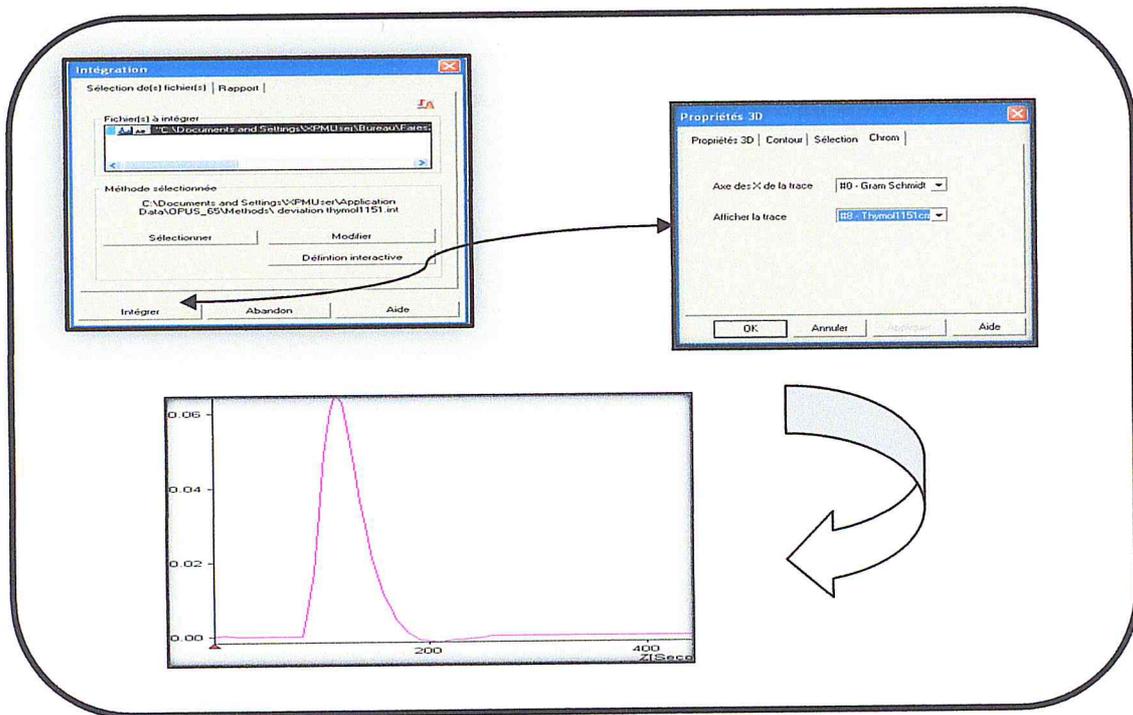
b) Etapes d'obtention d'un chemigramme via le logiciel « CHROM »

**Etape 1 :** Obtention de chemigramme globale de l'analyse de la Zone totale comprise entre  $4000$  et  $800 \text{ cm}^{-1}$  (figure 12),



**Figure 12 :** Chemigramme globale affiché à partir la fenêtre Propriétés 3D

**Etape 2** : Intégration et affichage de chemigramme à une bande spécifique, pour le trans anéthol à  $967\text{ cm}^{-1}$  (figure 13)



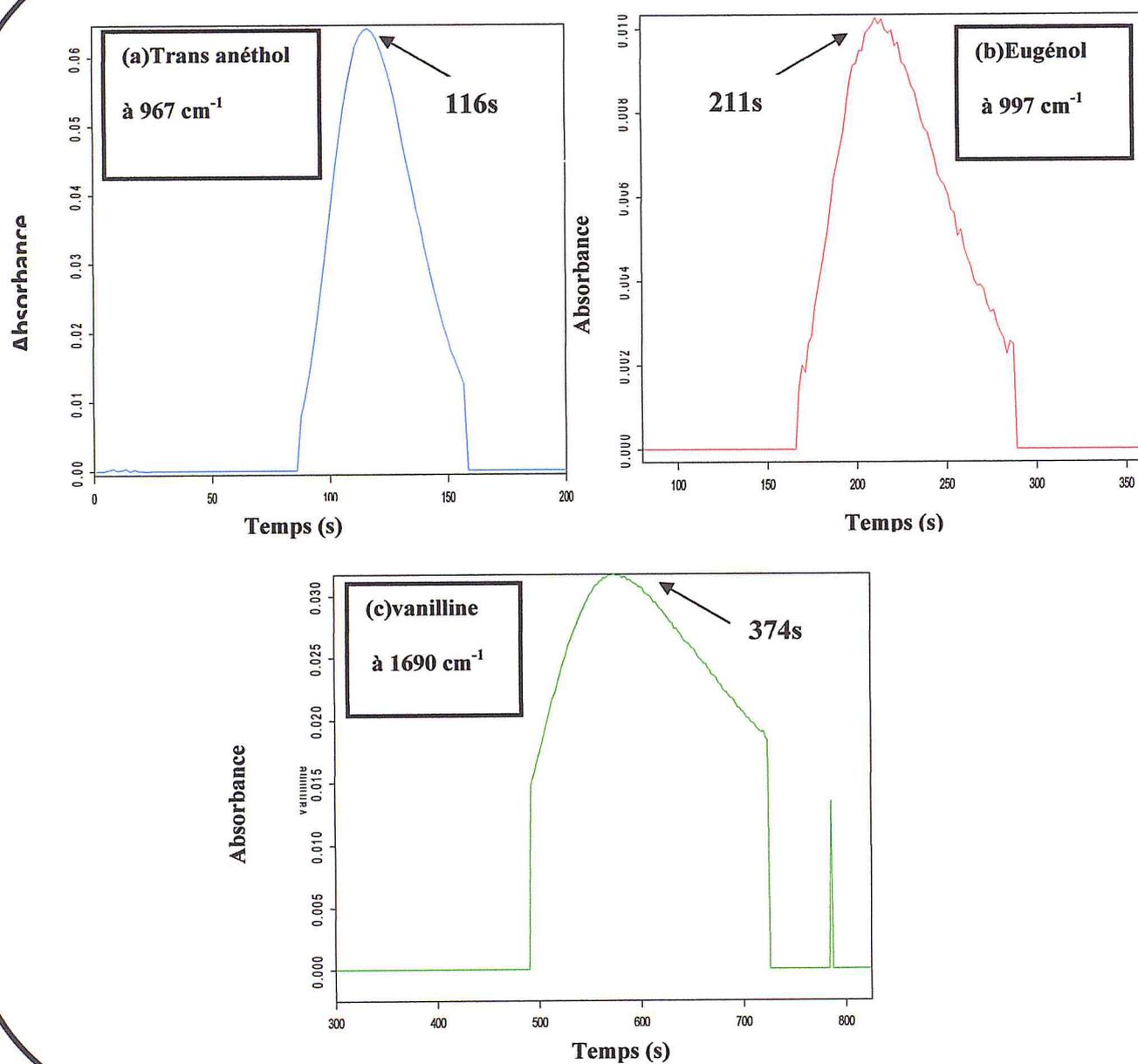
**Figure 13** : Chemigramme de trans anéthol à  $967\text{ cm}^{-1}$  intégré par la fenêtre « Intégration » et ensuite affiché à partir de la fenêtre « Propriétés 3D »

Suite à ce qui précède, on ne conclue que les deux logiciels permettant l'analyse en flux continu. Cependant le logiciel « Mesures multiples » est laborieux et nécessite un temps d'analyse beaucoup plus important.

Une fois l'aspect pratique des deux logiciels est mis en évidence, il a été décidé de poursuivre le reste des manipulations de cette étude avec le logiciel « CHROM ».

### III.2.3 Ordre d'élution des trois phénols

Afin de savoir l'ordre d'élution des trois phénols, le chemigramme de chaque solution étalon de concentration de  $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  préparée à part et traversant l'adsorbant de gel de silice est obtenu. Comme l'illustre la figure 14, le premier étalon élué est le trans anéthol dont l'absorbance maximale apparaît après 116s suivi par l'eugénol après 211s et à la fin la vanilline après 374s.



**Figure 14** : Chemigrammes des trois étalons élués à travers l'adsorbant en flux continu : (a) Trans anéthol, (b) Eugénol, (c) Vanilline

Comme on peut bien le constater sur la figure 14, plus le temps d'élution est grand plus l'allure gaussienne du chemigramme se dégrade.

### III.2.4 Relation entre la polarité et l'ordre d'élution

Le solvant d'élution le dichlorométhane est un solvant apolaire, et la phase solide ( $\text{SiO}_2$ ) est polaire donc cette dernière retient les composés polaires et laisse les composés apolaires. A partir de résultats obtenus, le premier étalon élué est le trans anéthol plus apolaire, suivi par l'eugénol et à la fin c'est la vanilline le très polaire.

### III.3 Détermination des paramètres analytiques du processus rétention-élution en mode AFC

#### III.3.1 Reproductibilité du processus rétention-élution en mode AFC

Afin de tester la reproductibilité du processus rétention-élution en mode AFC des solutions mélanges avec des concentrations différentes sont éluées à travers le support solide et analysées en mode AFC.

La figure 15 montre les chemigrammes de chaque phénol, se trouvant en mélange à différentes concentrations. Le coefficient de corrélation montré sur la figure 16 indique une très bonne corrélation entre les concentrations de phénols et la réponse analytique traduisant ainsi une très bonne reproductibilité de processus rétention-élution indépendant de la concentration considérée.

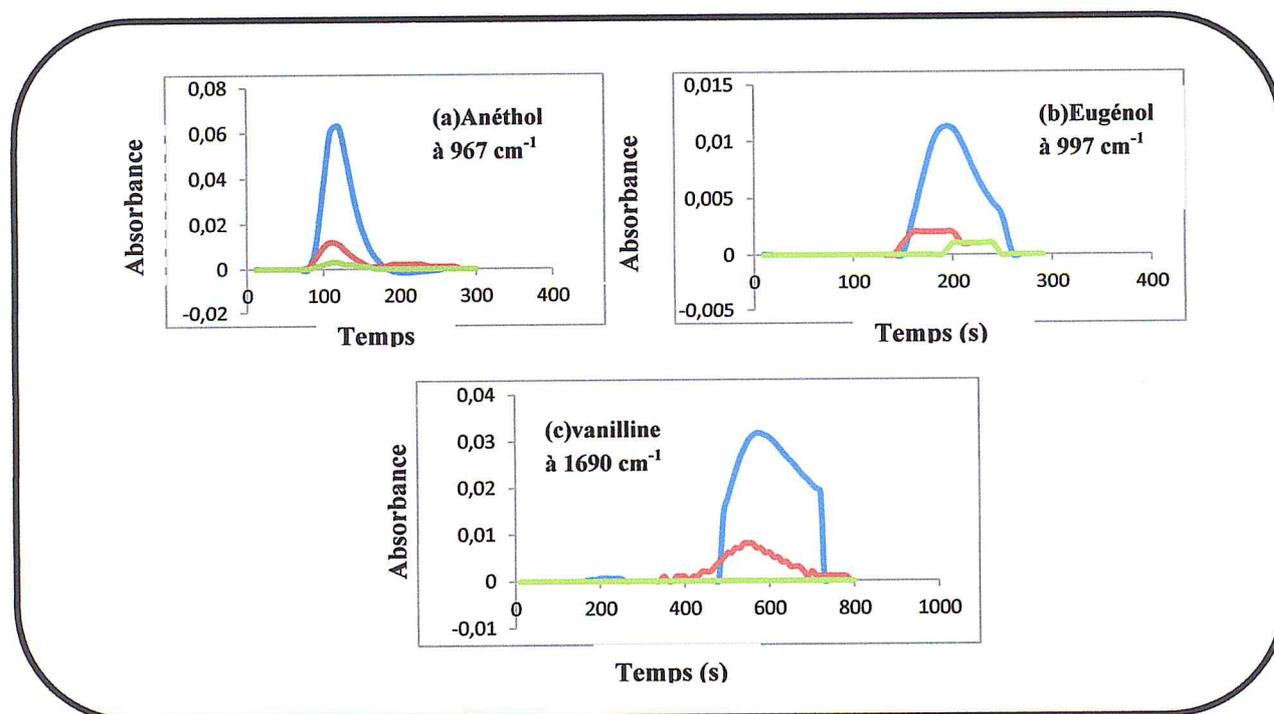


Figure 15 : Chemigrammes de trois phénols se trouvant en mélange à différentes concentrations (0.5, 2 et 10 mg.ml<sup>-1</sup>)

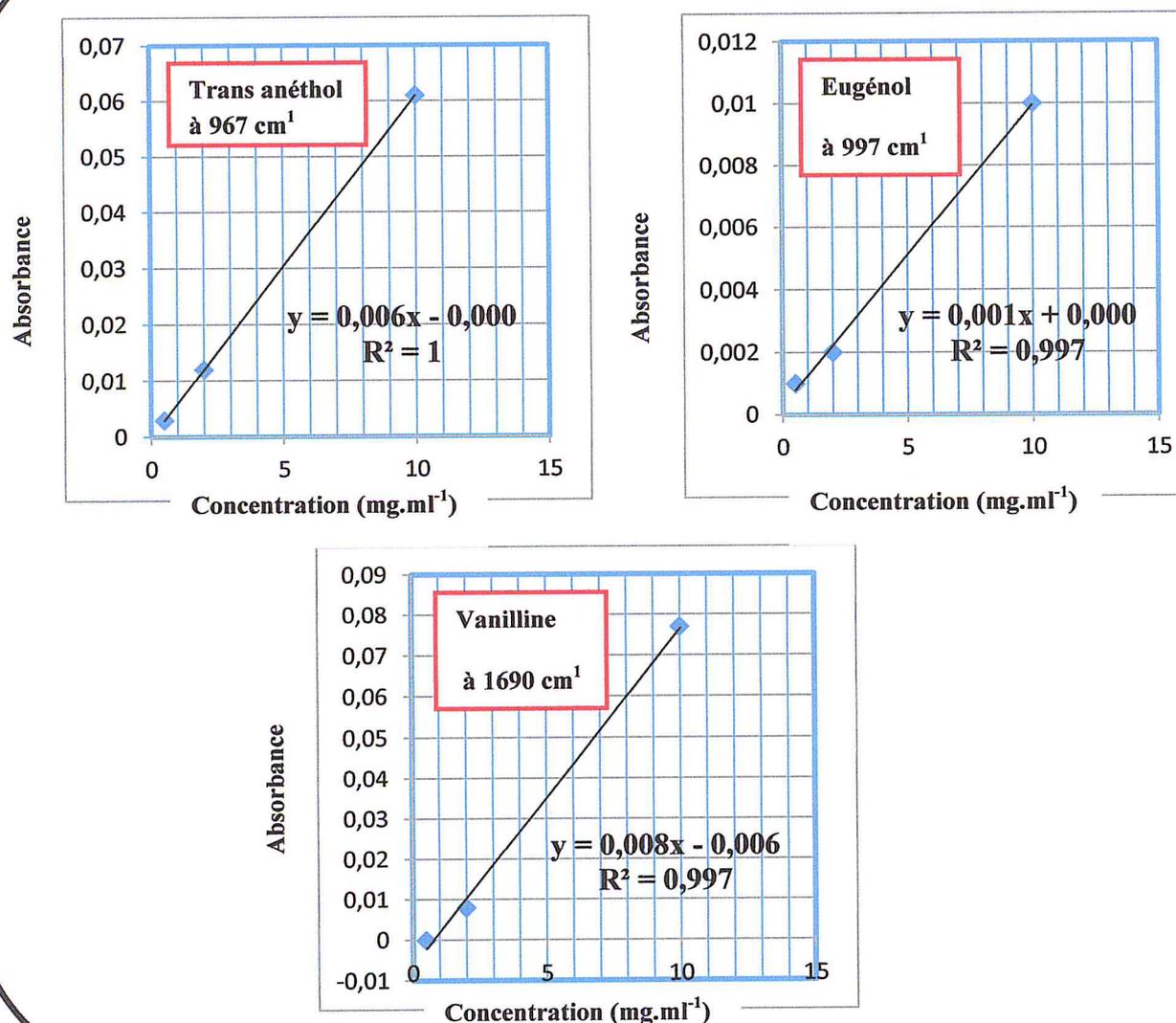


Figure 16 : Droites de calibration des solutions étalons des 3 analytes élués en flux continu : Trans anéthol, Eugénol et la vanilline

### III.3.2 Coefficient de dispersion des analytes dans l'adsorbant

La comparaison de la pente de la droite de calibration des solutions étalons obtenus directement dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et après élution à travers le support solide donne la valeur du coefficient de dispersion des analytes.

Les résultats du tableau 6 montre que le coefficient de dispersion est lié directement au temps d'élution c.-à-d. plus l'analyte passe de temps au sein de l'adsorbant et plus le coefficient de dispersion est important.

**Tableau 6 :** Coefficient de dispersion des trois phénols

Etalon	Temps d'absorption maximale (s)	Pente		Coefficient de dispersion D $D = \frac{A_d}{A_e}$
		Courbe Directe $A_d$	Courbe Après élution $A_e$	
Trans anéthol	116s	0.008	0.006	1.3
eugénol	211s	0.002	0.001	2
vanilline	574s	0.031	0.008	3.9

Afin de vérifier le comportement des analytes qui peuvent se trouver dans les huiles essentielles en proportion équitable ou comme produit majoritaire, des solutions de concentration de  $10 \text{ mg.ml}^{-1}$  des phénols se trouvant à l'état pur ou en mélange sont analysées par la méthode développée.

Les résultats résumés dans le tableau 7 indiquent que les rendements de récupération sont du même ordre pour chaque analyte qu'il soit pur ou en mélange.

**Tableau 7 :** Rendement de récupération des trois phénols soient purs ou en mélange

Etalon	Absorbance			Rendement de récupération	
	Analyse direct	AFC après élution		Etalon Pur	Etalon en mélange
		Etalon pur	Etalon en mélange		
Trans anéthol	0.084	0.06	0.061	71%	72.6%
Eugénol	0.025	0.01	0.010	40%	40%
vanilline	0.302	0.302	0.045	14%	10%

Suite aux résultats obtenus, une étude d'optimisation s'impose pour diminuer le coefficient de dispersion et augmenter le rendement de récupération.

### III.4 Effet de la quantité d'adsorbant sur le processus rétention-élution

Dans cette étude, seulement la quantité de phase est étudiée pour optimiser le processus rétention-élution.

#### III.4.1 Effet de la quantité d'adsorbant sur le coefficient de dispersion

Afin de diminuer le temps d'élution et par conséquent le coefficient de dispersion  $D$  ( $D_{\text{Optimal}} = 1$ ), des quantités d'adsorbant de gel de silice de 500, 200 et 100 mg sont testées.

Les résultats dans le tableau 8 montrent que la masse de 100 mg de gel de silice donne les meilleurs coefficients de dispersion et permet un temps d'analyse plus court avec un écart de 58 secondes entre le 1<sup>er</sup> analyte élué et le dernier. Cependant la recherche d'un couple adsorbant-eluant permettant la diminution d'avantage de ce paramètre est indisponible.

**Tableau 8** : Effet de la quantité d'adsorbant sur les coefficients de dispersion

Quantité de gel de silice	Trans anéthol		Eugénol		Vanilline	
	Temps $A_{\text{max}}$ (s)	D	Temps $A_{\text{max}}$ (s)	D	Temps $A_{\text{max}}$ (s)	D
500 mg	116	1.3	211	2	574	3.9
200 mg	66	1.25	90	1.6	180	3.6
100 mg	48	1.37	62	1.5	106	3

Temps  $A_{\text{max}}$  (s) : Temps d'absorption maximale (s)

#### III.4.2 Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme

Les figures 17-19 illustrent l'effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure du chemigramme. Plus la quantité d'adsorbant est faible l'allure des chemigrammes des trois phénols est meilleure.

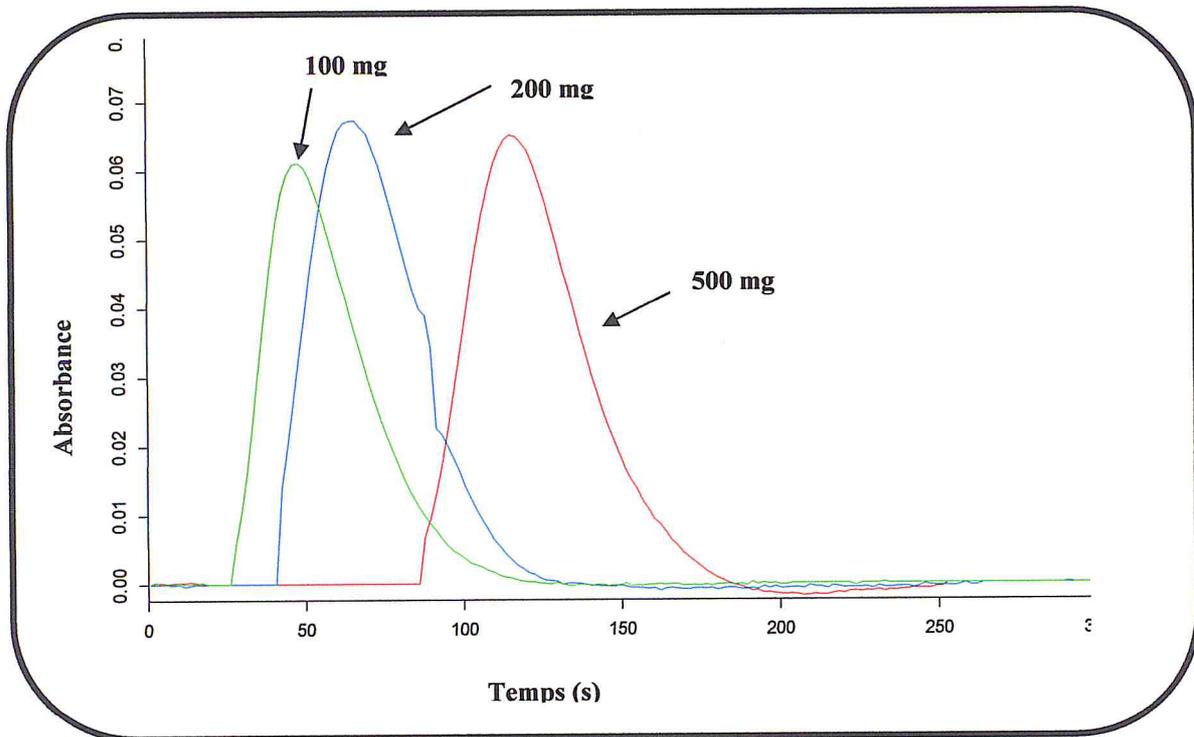


Figure 17 : Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme du Trans anéthol à 967 cm<sup>-1</sup>

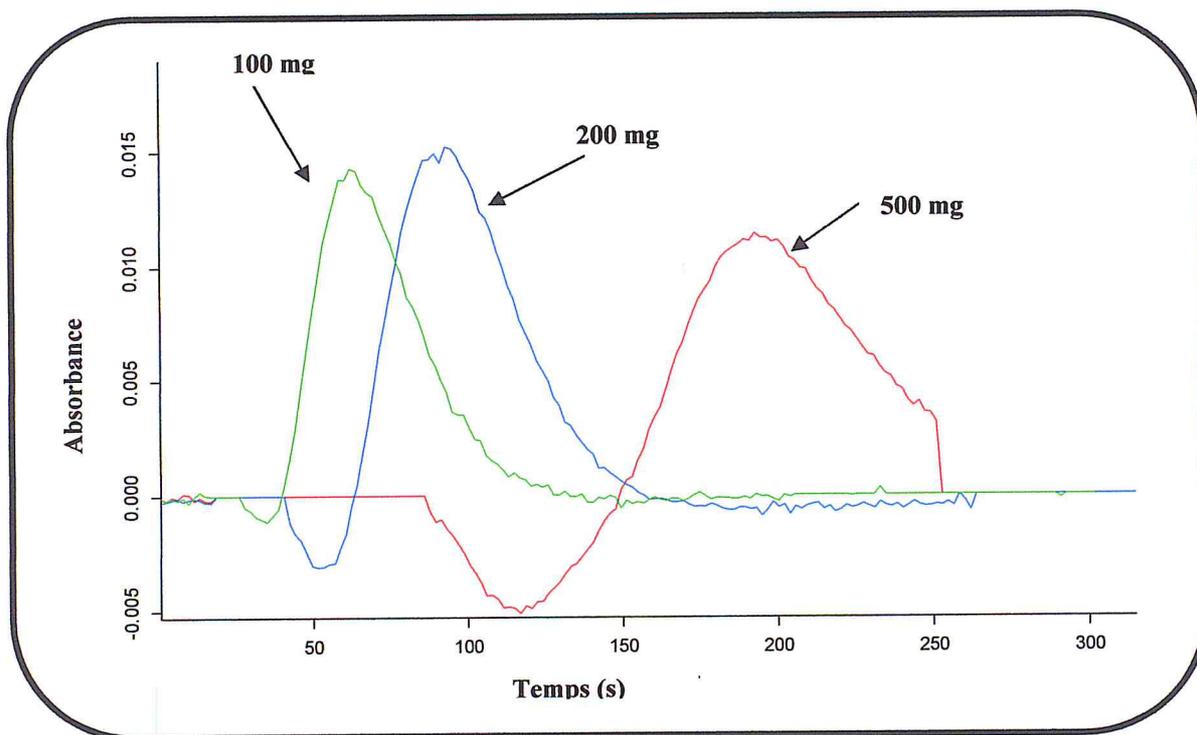
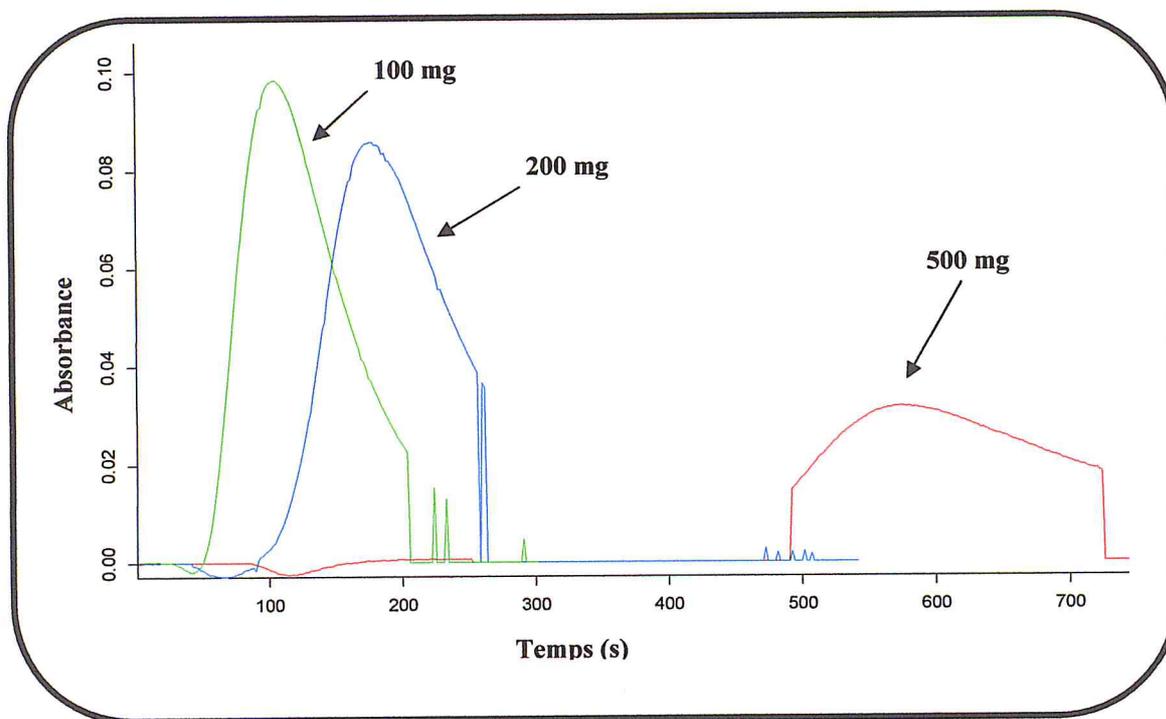


Figure 18 : Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme du l'eugénol à 997 cm<sup>-1</sup>



**Figure 19 :** Effet de la quantité d'adsorbant sur l'allure de chemigramme du vanilline à  $1690\text{ cm}^{-1}$

Suite à ce qui précède la quantité de 100 mg d'adsorbant offre le meilleur coefficient de dispersion et la meilleure allure des chemigrammes.

### III.5 Teneurs approximatives des phénols dans les huiles essentielles

0.3 mL de chaque huile essentielle diluée dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  et de concentration de  $32.5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  sont élués à travers une cartouche d'EPS contenant 100 mg d'adsorbant solide et analysée en continu par spectrométrie IRTF.

La détermination de la teneur des phénols dans les huiles essentielles est approximative car elle est calculée par rapport à une seule valeur de concentration de  $10\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  et non pas par l'extrapolation dans une droite de calibration. La formule de calcul est montrée ci-dessous.

$$T(\%) = \frac{C_{PHE}}{32.5} \times 100 = \frac{A_i \times 10}{A_t \times 32.5} \times 100$$

- T(%) : Teneur du phénol dans l'huile essentielle considérée ;
- $C_{PHE}$  : Concentration du phénol dans l'huile essentielle considérée ;
- $10\text{mg.mL}^{-1}$  : Concentration de référence des 3 étalons en mélange ;
- $A_t$  : Absorbance de la solution des 3 étalons de  $10\text{ mg.ml}^{-1}$  ;
- $A_i$  : Absorbance de phénol présent dans l'huile essentielle ;
- $32.5\text{ mg.mL}^{-1}$  : Concentration de l'huile essentielle préparée.

Le tableau 9 montre les résultats obtenus par analyse IRTF en flux continu et la comparaison avec celle du couplage CG-SM.

**Tableau 9 : Teneurs des phénols dans les huiles essentielles**

Huile essentielle	Phénol simple	Teneur expérimentale AFC-IRTF	Teneur théorique CG-SM
Anis étoilé	Transe anéthol	100%	90% [39]
Clous de girofle	Eugénol	113%	83.73% [40]

La comparaison des teneurs obtenues par spectrométrie IRTF et par CG-SM donne, des valeurs comparables indiquant que la méthode développée est prometteuse.

## *Chapitre III*

Création et exploitation d'une banque de données  
spectrales pour l'identification des composés des huiles  
essentielles

## I. Introduction

Le grand développement de la Technique Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) est dû à son emploi tant pour l'identification qualitative que pour l'analyse quantitative et pour l'étude des structures chimiques.

L'analyse qualitative se réalise généralement en deux méthodes, (1) l'identification des groupements fonctionnels de la substance, (2) la confirmation de la structure moléculaire à partir de la comparaison de la totalité de spectre avec celui d'un spectre de référence d'un composé connu.

L'objectif de cette étude est double :

Le premier est consacré au regroupement de la majorité des produits chimiques des substances naturelles qui appartiennent à la même classe chimique (Tableau 10-13). Ce travail facilitera les futurs travaux portant sur l'analyse qualitative et/ou quantitative des différents produits de la même classe par spectrométrie IRTF.

Le deuxième est focalisé sur la création d'une modeste banque de donnée spectrale IRTF de quelques composés (selon la disponibilité) existant dans les substances naturelles.

Cette bibliothèque de spectres de grande utilité sera mise à la disposition des chimistes et des chercheurs travaillant dans le domaine des substances naturelles pour l'identification des produits.

L'application dans cette étude concerne la détermination des composés d'une série d'huiles essentielles éluées à travers un support solide de type silice ( $\text{SiO}_2$ ).

L'identification des composés élués se réalise en faisant appel à la bibliothèque spectrale préalablement établie sur le logiciel OPUS de l'IRTF. Une analyse comparative sera réalisée par CG-SM. Il y a lieu de noter que la bibliothèque établie reste très pauvre et son enrichissement ne peut que renforcer l'étude qualitative.

## II. Composition chimique des plantes

On rencontre chez les végétaux différents produits naturels qui se trouvent dans de nombreuses parties de la plantes, ces produits naturels sont des composés terpéniques, des composés phénoliques et d'autres tels que les acides gras, les stéroïdes....etc. Dans ce travail nous intéressons à la composition chimique de quelques classes à savoir :

## II.1 Composés terpéniques

Le tableau 10 regroupe une liste importante des composés de différentes classes des terpènes existants dans les plantes. On note les monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, tetraterpènes qui peuvent être hydrocarbonnées, oxygénés ou glucosidique.

**Tableau 10** : Principaux composés de différentes classes de terpènes

Classes		Nom de composé	Réf.
T E R P E N E S	M H T	1) Phellandrène	41
		2) Car-4-ène	42
		3) $\alpha$ -fenchène: 7,7-dimethyl-2-méthylène bicyclo [2, 2,1] heptane	43
		4) 1-méthyl-3-(1-méthyléthyl) Benzène	
		5) $\beta$ -phellandrène	46
		6) Terpinolène	
		6) P-mentha-1(7) ,4(8)-diene	48
		7) 1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl Benzene	
		8) 2, 3,3-trimethyl-3-cyclopentène acétaldéhyde	49
		9) $\beta$ -myrcène	41-43
		10) 3,7-dimethyl-1, 3,6-octatriene ou Ocimène	42, 44-48
		11) $\alpha$ -pinène ou (1R)-2, 6,6-trimethylbicyclo (3.1.1) hept-2-ène	41-43, 45-47, 49
		12) Limonène	42, 43, 45, 46, 48, 50, 51
		13) $\gamma$ -terpinène	41, 42, 45-48
		14) $\alpha$ -terpinolène	42, 46, 48
		15) $\beta$ -Pinène	45-48, 52
		16) Camphène	45-47, 49
		17) Alpha- tujène	41, 46
		18) p-cimène	41, 45, 47
		19) Sabinène	41, 43, 48, 53
		20) $\alpha$ -terpinène	46, 48
		21) o-cymène	41, 45, 48
		22) Myrcène	45-47
		23) Camphre	41, 45, 47
		24) $\alpha$ -phellandrène	45-47
25) Car-3-ène	42, 45-47		
S	O	1) Cis-sabinene hydraté	41
		2) Trans-p-mentha-2,8-dienol	
		3) Dihydrocarvyl acetate	
		4) Acetate de Cis-carvyl	
		5) Acetate de trans-carvyl	
		6) 3-methyl-2-pent-2-enyl-cyclopent-2-enone	
		7) 1-terpineol	

8) Piperitone	
9) Cuminal	
10) $\beta$ -terpinèol	
11) Methoxy carvol	
12) Myrcènol	42
13) Trans-geraniol	
14) Cis-geranyl acetone	
15) Bergarniol	
16) (-)-cis-myrtanyl acétate	
17) Limonène acide	
18) Limonène époxyde	
19) Ester de linalyl	
20) Iso-geraniol	
21) Nerol	
22) Isopinocarveol	
23) (S)-cis-verbenol	
24) Comphone: 1,7,7-trimethyl-(15) bicyclo[2,2,1]hept-2-one	43
25) 4,6,6-trimethyl bicyclo [3.1.1]hept-3-ene-2-ol	
26) Anitinol : 2-methyl-6-methylene-3,7-octadien-2-ol ou bien	44
27) 3-methyl-6-(1-methylethylidene)2-cyclohexen-1-one (piperitenone; pulespenone; 3 terpinolenone )	
28) 8,8-dimethyl-4-methylene-1-oxaspiro[2,5]oct-5-ene	
29) (+)- (1S, 5S)-2(10)-3-pinadien-4-ylacetate	
30) Hotrienol	
31) Pulegone	
32) Citral	
33) 4-acetyl car-3-ène	
34) n5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a trimethyl2(4H) benzofuranone	
35) Oxyde de trans-carvone	
36) Oxyde de trans-limonene	
37) (+)-2-acetyl-2-carene	
38) Neoisomenthol	45
39) Isobornéol	
40) m-cymen-8-ol	
41) Acétate dihydro linalyl	
42) 1,4-Cineole	
43) $\alpha$ -thujone	47
44) Acétate de sabinyle	
45) Fenchone	
46) Cuminaldehyde	48
47) Acide 4-(1-methylethyl)benzoïque	
48) Car-2-en-10-al	
49) 2-pine-4-ol	49
50) Oxyde de trans-linalol	
51) Aldehyde de fencholénique	
52) 2, 3, 3-trimethyl-3-cyclopentene acétaldéhyde	
53) Pinocarvone	
54) p-mentha-1,5-dien-8-ol	
55) pin-2-en-4-one	
56) Citronéllol	
57) Oxyde d'acetoxy-cis-linalol	
58) P-mentha-1(7), 8(10)-dien-9-ol	54
59) Safranal	

		60) $\beta$ -cyclocitral	
		61) Linalol	41-49
		62) Thymol	41, 44
		63) acetate d'isopulegol	42, 49
		64) Acétate de geranyl	42, 44, 46
		65) Acetate de Neryl	42, 46
		66) Acétate de terpinéol	42, 44
		67) 1,8-cinéole (eucalyptol)	41, 42, 45, 54
		68) Acetate de linalyl	42, 44, 45,49
		69) Trans-pinocarveol	45, 49
		70) Bornéol	42,45, 47, 49
		71) p-cymene-8-ol	45, 49
		72) Carvéol	41, 43, 45, 49
		73) Trans-sabinene hydraté	41, 45
		74) 4-terpinéol	41, 42, 45, 46, 48
		75) Trans-(+)-carvéol	41, 43
		76) Carvone	41, 43, 45
		77) Dihydro carvéol	41, 42, 45
		78) Cis-jasmone	41, 42
		79) Cis-p-menth-2-en-1-ol	46,47
		80) $\alpha$ -terpineol (p-menth-1-en-8-ol)	41, 42, 45
		81) 1-verbenone	42, 47
		82) Dihydrocarvone	41, 43
		83) Phellandral	41, 48
		84) Acetate de bornyle	41, 45, 46
S Q T	H	1) $\beta$ -bourbonène	41
		2) Ledène	
		3) Aromdendrène	
		4) $\beta$ -bisabolène	42
		5) Germacrène	
		6) E-farnesène	44
		7) $\gamma$ -elemène	
		8) m-camphorène	46
		9) p-camphorène	
		10) D-Germacrène	
		11) $\alpha$ -cadinène	
		12) Trans- $\beta$ -farnesène	49
		13) $\alpha$ -calacorène	
		14) Cedrène	
		15) Elemène	
		16) $\alpha$ -amorphène	
		17) $\beta$ -selinène	
		18) (+)-epi-bicyclosesquiphellandrène	
		19) 3-aromadenedradiène	56
		20) Cadina-1(10),6 ,8-triène	
		21) (+)-calarène	
		22) $\alpha$ -humulène	44, 46,47
		23) $\alpha$ -muroène	44, 46, 49

		24) Alloaromdendrène	41, 44
		25) cis- $\alpha$ -bergamotène	44, 45
		26) Caryophyllène	41, 42, 44, 46,47, 49, 55
		27) Calamenène	41, 49
		28) $\gamma$ -cadinène	41, 49
		29) $\Delta$ -cadinène	41, 42, 49
		30) $\alpha$ -Gurjunène	41, 56
		31) $\alpha$ -copaène	41, 46
		32) $\delta$ -Cadinène	45, 47
		33) $\alpha$ -bisabolène	42, 46
	<b>O</b>	1) Longipinocarveol, trans	41
		2) $\alpha$ -spathulenol	42
		3) 2,3-dihydro-4-oxo- $\beta$ -ionone	44
		4) Ledol	
		5) Oxyde de bisabolol	
		6) $\alpha$ -bisabolol	
		7) $\beta$ -simensol	
		8) Gamma-cis-sesquicyclogeraniol	46
		9) $\alpha$ - ionone	
		10) Guaiol	
		11) Tau-cadinol	
		12) Epi-cubénol	49
		13) Elemol	
		14) B-eudesmol	
		15) Bêta-copaen-4 $\alpha$ -ol	58
		16) $\alpha$ -acorénol	
		17) $\beta$ -acorénol	44,54
		18) $\beta$ -ionone	
		19) (-)-elma-1, 3,11(13)-trien-12-ol	44, 48
		20) Oxyde de caryophyllène	41,44, 46-50, 55
		21) Cedrol	49, 57
		22) Humulène-2- epoxyde	46, 49
		23) $\alpha$ -cadinol	41, 42, 46
		24) Spathulenol	41, 49
		25) Isospathulenol	41, 49
<b>D T</b>	<b>O</b>	1) Oxide de manoyle	49
		2) Dérivés pimaranes	59
		3) Totarolone	60
		4) Totarol	
		5) Totarolenone	61
		6) Totaradiol	62
		7) Furrugénol	63
		8) Methyl-12 $\beta$ -hydroxy sandaracopimarate	64
		9) Phytol : 3, 7, 11,15 tétraméthyl hexadecen-1-ol	41,43, 54, 56
	<b>H</b>	1) Squalène	54
		2) 10-dimethyl squalène	56

T T O	O	1) Taraxasterol	65-67
		2) Calendadiol	
		3) Arnidiol	
		4) Heliantriol	
		5) Faradiol	
G	G	Acide oleanolique 28-O- $\beta$ -D-galactopyranoside-3- $\beta$ -O-(O- $\beta$ -D-galactopyranosyl (1-3) - $\beta$ -D-glucopyranoside	68, 69
		1) Oleanolglycoside	
		2) calendulaglycoside-A6-O-méthyle ester	
T T T	H	1) Carotène	65, 66
		2) Lycopène	
		3) Lutéine	
		4) Flavoxanthin	

MT : Monoterpènes ; SQt : Sesquiterpènes ; DT : Diterpènes ; TT : Triterpènes ; TTT : Tetraterpènes ; H : hydrocarbonné ; O : oxygéné ; G : glucosidique.

## II.2 Composés phénoliques

Le tableau 11 regroupe les plus importants composés de différentes classes phénoliques issus de plantes

**Tableau 11** : Principaux composés de différentes classes phénoliques

Classes	Nom de composé	Réf	
Composés phénoliques	1) Isoeugenol	42	
	2) Methoxy isoeugenyl		
	3) Methoxy eugenol		
	4) Phénol, 2-méthoxy-4-(2-propenyl)	43	
	5) Phénol	44	
	6) Benzophénone		
	7) 3,5-diméthyl phénol		
	8) 1-(2-hydroxy-5-méthylphényl) éthanone (acetophenone, o-acétyl-p-crésol)		
	9) Dilapiole		
	10) Apiol		
	11) 4-hydroxy-2-méthylacétophénone		
	12) Parachlorophénol		54
	13) Parabromophénol		
	14) 2,4-dibromo-phénol		
	15) 2-[2-[4-(1, 1, 3,3 tetraméthylbutyl) phénoxy]éthoxy]-éthanol		
	16) Octyl méthoxycinnamate		
	17) Anisaldehyde		
	18) 4-hydroxy-benzaldehyde		
	19) Acétylégénol	55	
	20) Phénol, 2-méthoxy-3-(2-propenyl)	56	
	21) p-crésol	43, 47	
	22) Anéthol		

		23) Eugénol	41, 44,55
		24) Carvacrol : 2-methyl-5-(1-méthyléthyl) Phénol	41,43-45, 51
	<b>Acides phénoliques</b>	1) Acide cafféique	66, 72
		2) Acide chlorogénique	
		3) Acide coumarique	
		4) Acide férulique	
	<b>Flavonoïdes</b>	1) (3`-méthoxy-3, 4, 5,7-tetrahydroxyflavone) isorhamnetine	65, 66, 72-75
		2) Isorhamnetine-3-Oglycoside	76
		3) Rutine	
		4) Quercetin-3-Oglycoside	
		5) 7-methoxy naringénine (sakuranétine)	
		6) 7-o-methoxy aromadendrine	
		7) 3-o- acetyl taxifoline	
		8) 3-o- acetyl padmatine	
		9) 4, 7,4`-trihydroxyflavone (apigénine)	
		10) 6-methoxy scrutellareine (hispiduline)	
		11) 5, 7,3`,4`- tetrahydroxyflavone (luteoline)	
		12) 5, 7,3`,4`- tetrahydroxy-3,6-dimethoxyflavone	
		13) 5, 7,3`,4`-tetrahydroxy-6,3-dimethoxyflavone	
		14) 5, 6,3`,4`-tetrahydroxy-3,7-dimethoxyflavone	
		15) 7-glucosyl-5, 6,3`,4`-tetrahydroxy-3-methoxyflavone	
		16) 5, 7,4`-trihydroxy-3,3`-dimethoxyflavone	
		17) (2S)-5, 7,4`-trihydroxyflavone (naungénine)	
		18) (2S)-5,4`-dihydroxy-methoxyflavone	
		19) (2R) (3R)-5, 7,3`,4`-tetrahydroxyflavone	
		20) (2R) (3R)-5,3`,4-trihydroxy-7-methoxyflavone	
		21) (2R) (3R)-3, 5,4-trihydroxy-7-methoxyflavone	
		22) (2R) (3R)-3,0-acetoxy-5, 7,4` trihydroxyflavone	
		23) (2R) (3R)-3,0-acetoxy-5,4`-dihydroxy-7-methoxyflavone	
		24) (2R) (3R)-3, 5, 7,3`,4`-pentahydroxyflavone	
		25) 2R) (3R)-3, 5,3`,4`-tetrahydroxy-7-methoxyflavone	
		26) (2R) (3R)-3,0-acetoxy-5,3`,4`-trihydroxy-7-methoxyflavone	
		27) 3-methoxy kaempférol (isokaempféride)	
		28) 3-methoxyquercétine	
		29) 3-methoxy quercétine -7-glucoside	
30) 7-methoxy quercétine (Rhamnétine)			
31) 3,3`-dimethoxy quercétine			
32) 3,6-dimethoxy quercétagétine (axillarine)			
33) 6,3`-dimethoxy quercétagétine (spinacétine)			
34) Eriodictyol			
35) 7-methoxy eriodictyol			

		36) 3-acetate aromadendrine	
		37) 7-methoxy aromadendrine	
		38) 3-acétate taxifoline	
		39) 7-méthoxy taxifoline	
		40) 7-méthoxy -3-acetate taxifoline	
		41) Aromadendrine (dihydrokaempférol)	
		42) Taxifoline (dihydroquercétine)	
	<b>Coumarines</b>	1) Esculetin	66
		2) Scopoletin	
		3) (7-hydroxycoumarin) umbelliféron	
		4) 2H-pyran-2-one (coumalin)	
	<b>Tanins</b>	1) Catéchole et pyrogalol	66
	<b>Lignane</b>	1) Déoxypodophyllotoxin	77

### II.3 Acides gras

Les principaux composés de la classe des acides gras extraits de plante sont montrés dans le tableau 12.

Tableau 12 : Principaux composés de la classe des acides gras

Classe	Nom de composé	Réf
<b>Acides gras</b>	1) Acide pentanoïque	44
	2) Acide 2-methyl butanoïque	
	3) Acide 2-ethyl butanoïque	
	4) Acide pentanoïque	
	5) Acide -4-oxo-butan-2-oïque	
	6) Acide heptanoïque	
	7) Acide octanoïque	
	8) Acide linoléique	54
	9) Acide stéarique	
	10) Acide tridecanoïque	
	11) Acide 3-methyl butanoïque (acide isovalerique)	44, 49
	12) Acide butanoïque	44, 49
	13) Acide hexanoïque	44, 49
	14) Acide 9-octadécénoïque (acide oléique)	54, 55
	15) Acide nonanoïque	44, 51
	16) Acide décanoïque	44,66,78
	17) Acide dodecanoïque (acide laurique)	44, 66, 78
	18) Acide decanedioïque	44, 52
	19) Acide tetradecanoïque (Acide myristique)	41, 43, 44, 54, 66,78
	20) Acide hexadecanoïque (Acide palmitique )	41,43, 54, 56, 66, 78
	21) Acide palmitoleïque	54, 56

II.4 Hydrocarbures

Les composés des hydrocarbures issus des plantes peuvent être classés en hydrocarbonée non oxygéné et hydrocarbonée oxygénés comme illustré dans le tableau 13.

Tableau 13 : Principaux composés de différentes classes d'hydrocarbures

Classes	Nom de composé	Réf		
H Y D R O C A R B U R E S	H y d r o c a r b u r e s	1) Octadecane-1-chloro	43	
		2) 2-méthyl-buta-1,3-diène	44	
		3) 3-héxyne		
		4) 1, 3,5-cycloheptatriène		
		5) 2,3-diméthyl-2-butène		
		6) 3,4-diméthyl-3-hexène		
		7) (2E,4E,6Z,8Z)-undecatetra2,4,6,8-ène		
		8) 2, 4, 6,8-tetraméthyl-1-undecène		
		9) Cyclohexane-1,3-diméthyl-2-méthylène		48
		10) 1,4-héxadiène-4-méthyl		
		11) Cyclohexane-1,3-diméthyl-2-méthylène		
		12) Cis, 2méthyl 1,3cyclooctadiène		
		13) Cyclopropane,1,1-dichloro-2,2-diméthyl-3-(2-méthylpropyl)		
		14) 4-méthyl-1,4-héxadiène		
		15) 1,5-décadiène		
		16) Méthoxy 2[Z] hexenyl	49	
		17) 3,3-diméthyl-6-méthylène-cyclohexène		
		18) Cyclodécène		
		19) Octacosane	50	
		20) (E)-9-octadécène	51	
		21) 1,2,3,3,4-pentaméthyl-cyclopentène	54	
		22) Tritetracontane		
		23) Heptadéc-8-ène		
		24) 1-tridécène		
		25) 2-méthyl tétradécane		
		26) Cyclotétradécane		
		27) Dotriacontane		
		28) 1,12-tridécadiène		56
		29) Tridécane	79	
		30) Hexadécane		
		31) n-heptadécane		
		32) Octadécane		
		33) 1-docosène		
		34) Pentadécane		44, 56, 79
		35) Heptadécane		44, 51, 54, 56
		36) Nonadécane		44, 50, 55, 79
		37) Tétradécane		44, 79

		38) Docosane	46, 79
		39) 1,2-diméthylcyclopropène	43, 79
		40) Heneicosane	44, 54
		40) Eicosane	50, 51,56
		41) Eicosène	54, 79
		42) Tricosane	43, 48, 50, 79
		43) Tetracosane	54, 79
		44) Pentacosane	50, 79
		45) Heptacosane	50, 79
		46) Hexatriacontane	50, 79
		47) 1-dodécèn-11-yne	48, 51
H y d r o c a r b u r e s  O x y g é n é s		1) Benzène methanol	41
		2) 3-octanol acétate	42
		3) 3-Decyn-2-ol	
		4) Trans-3-méthylpent-3-ene-5-ol	43
		5) 1-phényl-1-butanol	
		6) 3-hexyn-2-ol	
		7) Decanal	
		8) Delta-3-tetradecenol	44
		9) 1-(2-hydroxy ethoxy) tridecane	
		10) Formate d'isobutyle	
		11) 2-methyloctadecane	
		12) (2Z,4E) hexa-2,4-dien-1-ol	
		13) 2-méthyl propen-1-one	
		14) 1(2-furaylcyclopropyl) ethanone	
		15) 4-propyl-4-cyclopentene-1,3-diene (oxyde d'isopropyl)	
		16) (exo)-1-(hydroxyméthyl)-2-vinyl-2-méthylcyclopentane	
		17) 6-méthyl-5-(1-méthylethyl)5-hepten-3-yn-2-one	
		18) 2-méthylène cyclohexanol	
		19) (3-méthyl butyl)-oxirane	
		20) 2,6-heptadione	
		21) 2-pentadecanone	
		22) 1-méthyl-6,7-dioxabicyclo [3, 2,1] octane	
		23) 4-méthylpent-4-en-2-one (mésityloxyde)	
		24) 4-méthyl-4-hydroxy-pentan-2-one (alcool diacétone)	
		25) Héxan-2-ol	
		26) Benzaldéhyde	
		27) (E, E)-hexa di-2-ène-4-al	
		28) Benzène acétaldéhyde	
		29) Cis-cyclopent-4-ene-1,3-diol	
		30) 2-méthylène cyclohexanol	
		31) 3,5,5-triméthylcyclohex-2-ene-1-one (isophorone)	
		32) 2-cyclopentèn-1-one	
		33) Ketoisophorone	
		34) 1-ethoxy but-1-ène-3-yne	
		35) 4-pentèn-1-ol	
		36) Hexyl butyrate	45
		37) Hexyl-iso butyrate	
		38) Octène-3-ol	

	39) 3-octanone	
	40) 4[2,6,6-trimethylcyclohexa 1,3dienyl]pent-3-en-2-ol	48
	41) Propanal-2-methyl-3-phenyl	
	42) 3-penten-2-ol	
	43) 4(cyclohex-1'-enyl)but-2-en-1-ol	
	44) 2,2-dimethyl-1-phenyl-1-propanal	
	45) 2-methyl-1-phenyl-2-propen-ol	
	46) 1(1-hydroxyethyl)isobutyl benzene	
	47) 6-methyl-5(1-methylethyl) 5-hepten-3-yn-2-one	
	48) Cis, 2methyl 1,3cyclooctadiene	
	49) 2-undecanone	49
	50) Octadecanal	51
	51) Hexyl-2-methyl butyrate	
	52) E)-2-decenal	
	53) Vinyl cyclohexanecarboxylate	
	54) Myristate d'isopropyl	
	55) 2-methyl-2-cyclopenten-1-one	54
	56) (3Z, 13Z)-2-méthyl-3,13-octadécadién-1-ol	
	57) 1-Dotriacontanol	
	58) 1-hexadécanol	
	59) 1-Nonadécanol	
	60) 9-octadecanoate de methyl	
	61) Methyl eicosa-5, 8, 11, 14,17-pentaénoate	
	62) 3-octanol	41, 45

### III. Création d'une bibliothèque spectrale IRTF

Le logiciel OPUS contient une bibliothèque de 352 spectres IR de produits différents, ce logiciel permet à l'utilisateur de créer de nouvelles bibliothèques spectrales.

La bibliothèque que nous avons créée spécifiquement pour les composés issus de végétaux, l'obtention des spectres IRTF des étalons s'est faite de deux manières différentes.

#### III.1 Spectres IRTF des étalons analysés au niveau de notre laboratoire

Les dix-sept composés, dont nous disposons (tableau 14), sont dilués directement dans le dichlorométhane ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) avec une concentration de  $10\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$  et analysés par spectrométrie IRTF.

Les fenêtres utilisées dans cette étude sont en fluorure de baryum ( $\text{BaF}_2$ ) avec une entretoise en téflon de chemin optique de 0.1 mm. L'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de  $4\text{ cm}^{-1}$  et un nombre de scans égal à 5, en considérant un background stabilisé

préalablement dans les mêmes conditions instrumentales avec une cellule remplie de solvant le dichlorométhane stabilisée par l'amylène.

Les spectres obtenus sont introduits dans la bibliothèque spectrale en suivant les instructions montrées sur la figure 21.

### III.2 Spectres IRTF des étalons procurés de la littérature

Les vingt six spectres IRTF des composés pouvant exister dans les végétaux (tableau 14), ont été procurés de la littérature et introduits dans la bibliothèque spectrale.

De ce fait, un ensemble de 43 spectres sont stockés pour leur ultérieure l'exploitation dans l'identification des composés des huiles essentielles.

**Tableau 14** : Liste des composés introduits dans la bibliothèque spectrale IRTF crée

Les composés introduits dans la bibliothèque crée	
<b>Etalons analysés au niveau de notre laboratoire</b>	Trans anéthol (99%), eugénol (99%), vanilline (99%), thymol (99%), camphre (96%), eucalyptol (99%), menthol (98%), $\alpha$ -pinène (98%), $\beta$ -pinène (99%), (R)-limonène (98%), D(+)-limonène (95%), myrcène (95%), bornéol (97%), Linalol (97%), camphène (95%), Cymène (99%), alcool cinnamyl (98%).
<b>Etalons procurés de la littérature</b>	Isophorone, mesityloxyde, furfural, benzophénone, acide octanoïque, acide stéarique, coumarine, n-tétracosane, n-décane, myristate d'isopropyle, morphine, nicotine, curcumin, cis-stilbene, hydroquinone, D (+)Glucose, cocaïne, acide ascorbique (vit C), acide nicotinique, glycérol, vinyl acetate, acide glutarique, acide citrique, acide octanoïque, Docosane, acide stéarique, styrène et le cumène

### III.3 Etapes de la création de la banque spectrale

La création d'une nouvelle bibliothèque de spectres infrarouge, nécessite deux étapes; la première concerne la création de la bibliothèque (figure 20) et la deuxième est liée à l'introduction des spectres IRTF dans la bibliothèque (figure 21).

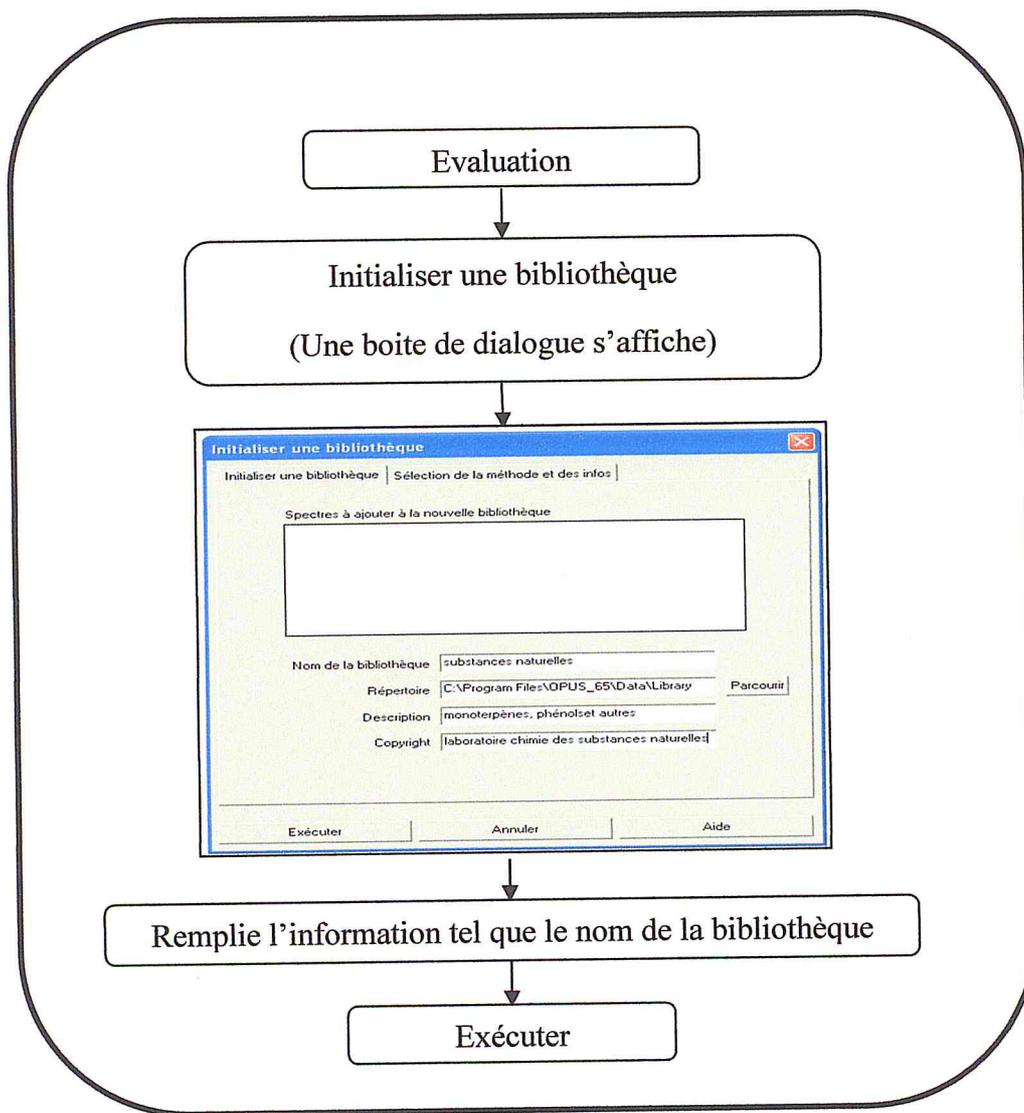


Figure 20 : Etapes de la création d'une nouvelle bibliothèque spectrale

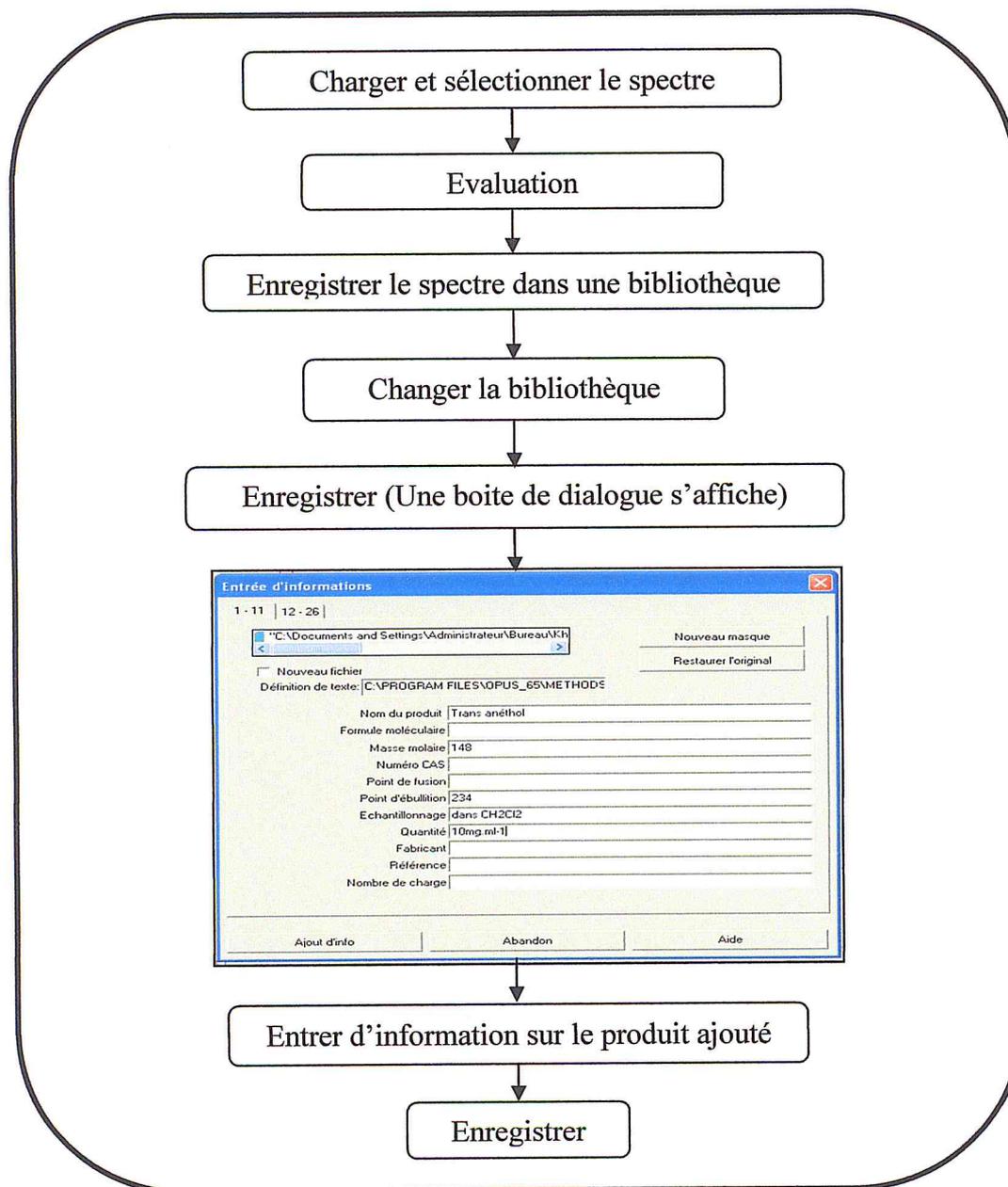


Figure 21: Etapes à d'introduction des spectres dans la nouvelle bibliothèque

#### IV. Identification des composés des huiles essentielle

Le but de cette partie est l'identification des composés des huiles essentielles élués en continu à travers un support solide par spectrométrie IRTF, en utilisant la banque de données crée, et la confirmation de la composition a partir de la comparaison avec les résultats de la CG-SM, et en exploitant le paramètre « score » fourni par le logiciel de recherche.

#### IV.1 Préparation des solutions des huiles essentielles

Les huiles essentielles de 15 plantes citées dans le tableau I (Annexe), sont analysées par spectrométrie IRTF. Une masse précise de 65mg de chaque l'huile essentielle est diluée directement dans un volume fixe de 2 ml de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

#### IV.2 Elution des huiles essentielles par AFC et identification par IRTF

Le montage de la figure 9b (chapitre II) a été utilisé pour élué en continu les composés des huiles essentielle. Un volume de 0.3 ml de chaque solution de l'huile essentielle préparée a été chargé à l'intérieure d'une cartouche de volume de 3 ml contenant 100 mg de gel de silice. L'écoulement de solvant permet l'éluion en flux continu des différents composés d'huiles essentielles à travers le support solide, et l'ordre d'éluion des composée est influencé par la nature chimique du couple solvant –phase solide.

L'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de  $4 \text{ cm}^{-1}$  et un nombre de scans égal à 1, et un temps d'analyse de 5 min.

L'enregistrement des spectres d'éluion en temps réel est suivi avec le logiciel « CHROM ».

#### IV.3 Étapes d'identification des composés des huiles essentielles

Afin d'identifier les différents composés des huiles essentielles élués en continu par spectrométrie IRTF nous exposons les 2 étapes à suivre pour y arriver.

##### **Étape 1** : Extraction des spectres IR à partir du chemigramme

L'organigramme de la figure 22 montre les étapes à suivre pour extraire un spectre un spectre IR à partir de chemigramme.

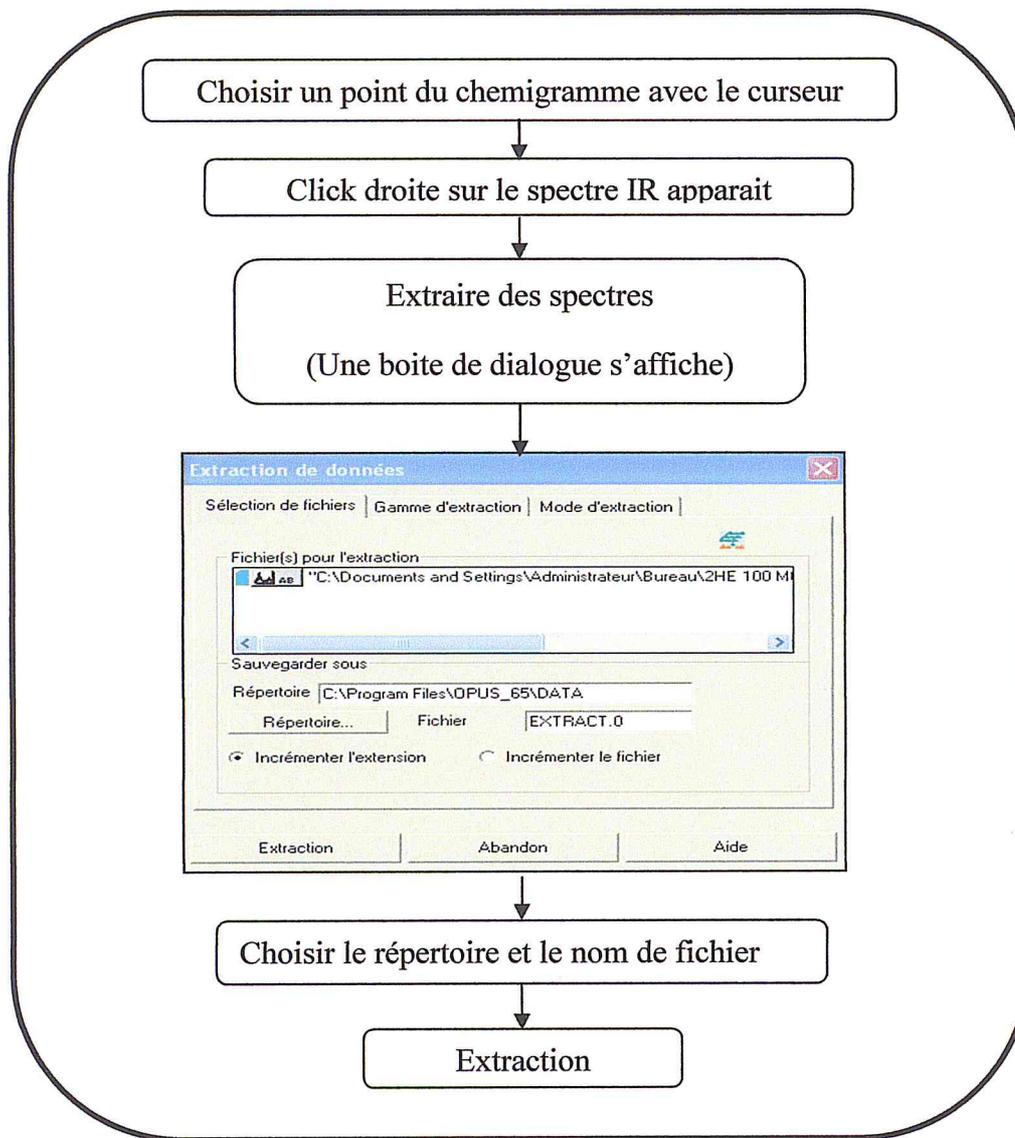


Figure 22 : Etape d'extraction des spectres IR à partir du chemigramme

**Etape 2** : Exploitation de la nouvelle bibliothèque pour l'identification

Le spectre extrait est récupéré puis soumis à l'identification selon le protocole montré sur la figure 23.

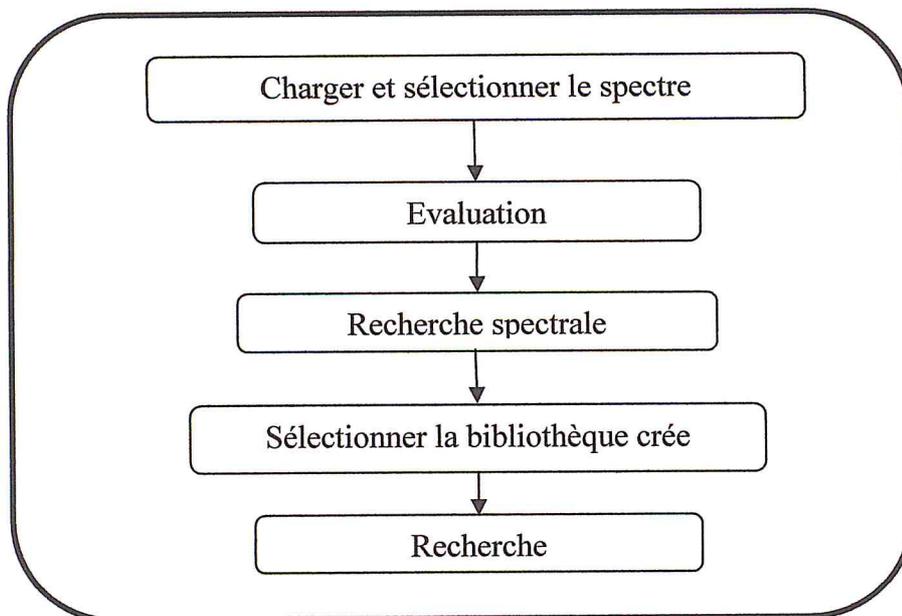


Figure 23 : Etape d'identification d'un spectre IRTF

Le résultat de recherche d'identification est un rapport constitué de quatre fenêtres (figure 24) :

- Fenêtre 1 : Montre la structure chimique du composé proposé.
- Fenêtre 2 : Indique les propriétés physico-chimiques du produit proposé.
- Fenêtre 3 : Montre les spectres IRTF du spectre extrait et du spectre du composé proposé.
- Fenêtre 4 : Indique la liste des produits probables correspondant au spectre IRTF extrait. Chaque produit de la liste est muni d'un score, ce dernier peut varier de 0 à 1000, plus le score est élevé plus la probabilité du produit proposé est élevée.

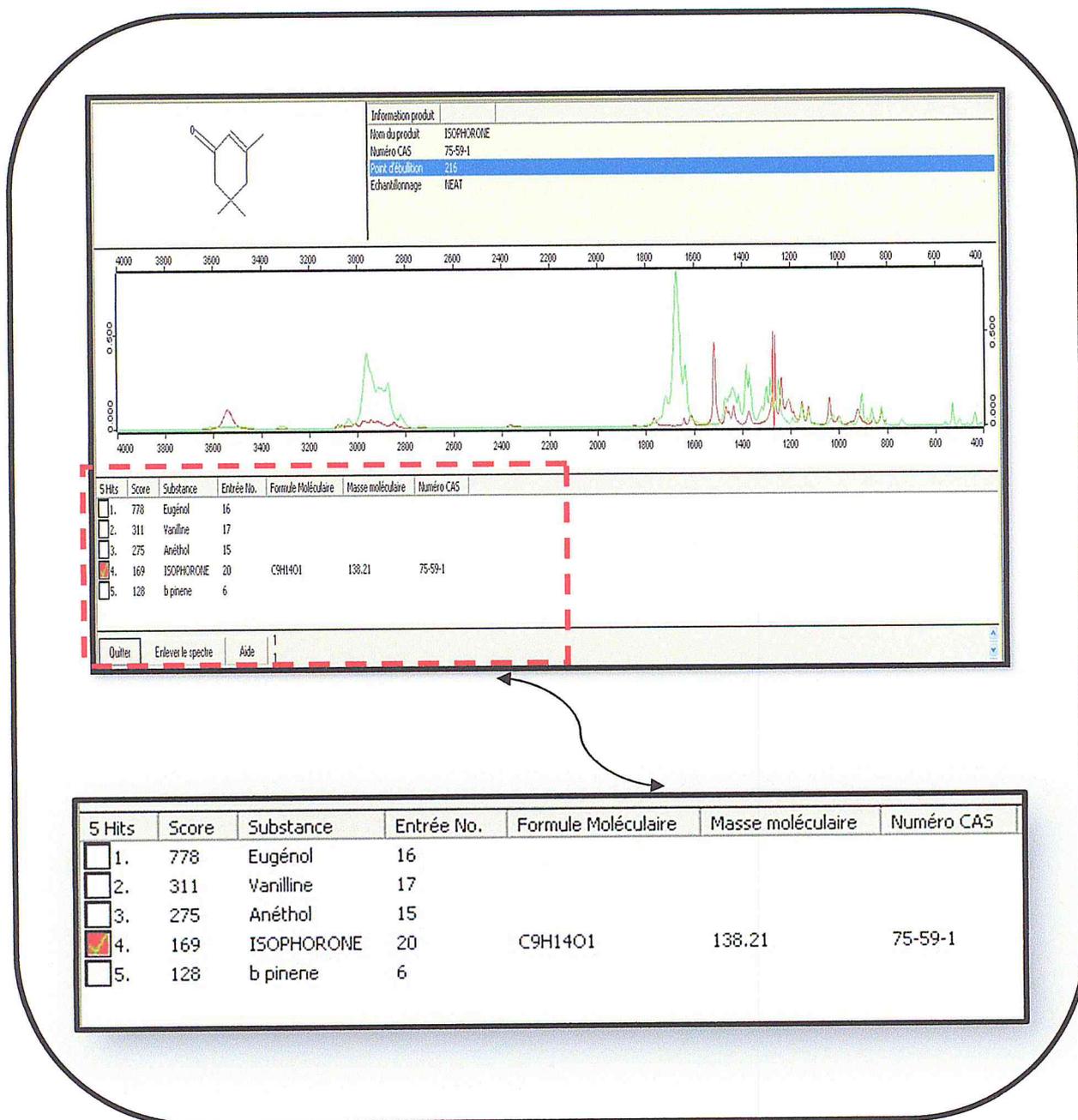


Figure 24 : Résultats affichés suite à la recherche d'identification

**Etape 3 :** Commence l'identification des produits de chaque spectre de la série du chemigramme, et chaque produit est muni d'un score indiquant sa probabilité de présence dans l'huile essentielle.

**Etape 4 :** Cette étape consiste à classer les composés identifiés en considérant le score plus élevé de chaque composé dans la série des spectres de chemigramme.

**IV.4 Identification des composés de l'huile essentielle synthétique par spectroscopie IRTF**

Pour vérifier la procédure d'identification que nous avons proposée, nous montrons les résultats de recherche d'une huile essentielle synthétique que nous avons préparée à partir de trois étalons (trans anéthol, eugénol et vanilline) dans une proportion 1 :1 :1. Le tableau 15 indique la probabilité d'identification de chaque spectre de l'huile essentielle établi selon l'étape 3.

**Tableau 15 :** Probabilité d'identification de chaque spectre du chemigramme de l'huile essentielle synthétique

N° Spectre	Composé chimique	Score	N° Spectre	Composé chimique	Score	N° Spectre	Composé chimique	Score
1	D (+) limonène	117	2	camphre	215	3	vanilline	139
4	D (+) limonène	218	5	camphène	123	6	vanilline	179
				camphre	104			
7	camphre	142	8	Vanilline	144	9	D (+) limonène	174
				styrène	110		Furfural	124
10	D (+) limonène	205	11	camphène	145	12	D (+) limonène	201
	Alcool cinamyle	151					Camphène	193
	Furfural	128		furfural	131		Alcool cinamyl	103
	Thymol	117						
13	camphre	176	14	Styrène	106	15	Vanilline	152
	furfural	116		menthol	104		Camphre	138
	Acide citrique	106					Furfural	130
16	Camphre	159	17	D (+)limonène	132	18	2-hexanone	161
				Vanilline	150		2-hexanone	130
				Acide citrique	125		Acide stéarique	122
				Furfural	122		furfural	109
							Camphre	148
							Acide citrique	112
							Menthol	108
							Eucalyptol	106

19	D (+) limonène	165	20	Alcool cinamyl	173	21	D(+) limonène	235
	Furfural	137		Furfural	159		Furfural	149
	Vanilline	118		2-hexanone	129		2-hexanone	140
	Acide citrique	115		camphène	107		Camphène	124
	2-hexanone	111					vanilline	111
22	2-hexanone	151	23	Furfural	142	24	Furfural	151
	D (+) limonène	147		2-hexanone	137			
	Furfural	143		Acide citrique	114			
	Vanilline	118		Vanilline	105		2-hexanone	130
	Acide citrique	110						
25	Camphre	203	26	Vanilline	162	27	2-hexanone	134
	2-hexanone	163		2-hexanone	156			
	Furfural	161		camphre	129			
	Styrène	133						
	Vanilline	118						
Acide citrique	104							
28	D (+) limonène	237	29	2-hexanone	154	30	2-héxanone	152
	Camphène	206		Eugénol	136		α-pinène	150
	2-hexanone	154		α-pinène	122		Benzophenone	110
	Alcool cinalmyl	150		eucalyptol	103		Menthol	106
	α-pinène	115					Vanilline	102
31	D (+) limonène	212	32	Camphre	181	33	Acide stéarique	147
	2-héxanone	140		styrène	156		Eucalyptol	141
	Camphre	139		2-hexanone	142		Styrène	139
	α-pinène	129		Eucalyptol	128		Menthol	126
	Eucalyptol	114		α-pinène	127		α-pinène	104
	vanilline	111		vanilline	103			
34	Camphre	151	35	Borneol	154	36	2-hexanone	130
	2-hexanone	128		Eucalyptol	132		Alcool cinamyl	121
	Vanilline	118		2-hexanone	128		Borneol	110
	eucalyptol	110		vanilline	104		α-pinène	101
Alcool cinamyl				102	Cis-stilbène		101	
				isophorone	100			
37	Camphre	135	38	2-hexanone	145	39	2-hexanone	132
	2-hexanone	111		Cis-stilbène	145		Alcool cinamyl	124
	Alcool cinamyl	108		Alcool cinamyl	131		borneol	119
	styrène	101		Benzophenone	130		Cis-stilbène	106
				α-pinène	118		eucalyptol	101
menthol				102				
40	Camphre	180	41	Alcool cinamyl	126	42	Alcool cinamyl	146
	Vanilline	148		Cis-stilbène	110		Vanilline	133
	Alcool	117		2-hexanone	101		D (+) limonène	133

	cinamyl							
	styrène	102						
43	Alcool cinamyl	126	44	Alcool cinamyl	207	45	D (+) limonène	173
				Acide stearique	158		Camphène	131
				Linalol	149		Alcool cinamyl	129
	Cis-stilbène	109		Thymol	144		R-limonène	123
	Cis-stilbène			121	Cis-stilbène		113	
	Eucalyptol			114	myrcène		107	
	isophorone			108				
46	D (+) limonène	175	47	Benzophenone	188	48	Menthol	159
	R-limonène	140		Cis-stilbène	160		Alcool cinamyl	126
	Alcool cinamyl	138		coumarine	135			
	Cis-stilbène	127		Alcool cinamyl	126			
	Myrcène	112		2-hexanone	119		Cis-stilben	108
	Camphène	109		Isophorone	106			
	camphre	106		Menthol	101			
49	Borneol	149	50	Camphre	205	51	Camphre	161
	Menthol	143		Alcool cinamyl	145		Alcool cinamyl	129
	Alcool cinamyl	139						
	Acide stearique	131						
	Styrène	117						
	Cis-stilbène	127						
	Myrcène	113						
52	Camphre	191	53	D (+) limonène	175	54	D (+) limonène	168
	Alcool cinamyl	131		R-limonène	163		Alcool cinamyl	141
				Alcool cinamyl	134		Camphène	139
				Camphène	134		Cis-stilbène	129
	Cis-stilbène	116		Cis-stilbène	120		R-limonène	114
	Styrène	100		Myrcène	116		Myrcène	101
			bornéol	103				
55	R-limonène	192	56	Cis-stilbène	151	57	D (+) limonène	340
	D (+) limonène	158		Alcool cinamyl	140		camphène	175
	Myrcène	141						
	cymène	127						
	Alcool cinamyl	126						
	vanilline	119						
	Cis-stylbène	110		(-) nicotine	107		Cis stilbène	109

58	D (+) limonène	175	59	Vanilline	185	60	Alcool cinamyl	133
	Alcool cinamyl	147		Alcool cinamyl	117		Cis-stylbène	115
	camphène	147		Cis-stylbène	101		Acide stearique	103
	Cis-stylbène	116						
61	Alcool cinamyl	186	62	eucalyptol	120	63	camphre	216
	Cis-stylbène	120		Alcool cinamyl	116		D (+) limonène	131
	eucalyptol	103		Myrcène	108		myrcène	128
				Cis-stylbène	108		Camphène	117
				camphre	107		cymène	112
64	Alcool cinamyl	126	65	D (+) limonène	153	66	Myrcène	162
	vanilline	121		Myrcène	128		R-limonène	157
	Cis-stylbène	119		cymène	112		camphène	117
				R-limonène	111		Alcool cinamyl	111
				camphène	105		Cis-stylbène	108
67	D (+) limonène	123	68	D (+) limonène	124	69	vanilline	152
	Alcool cinamyl	107						
	Cis-stylbène	104						
70	$\alpha$ -pinène	157	71	Styrène	115	72	Camphre	260
73	vanilline	154	74	D (+) limonène	160	75	styrène	111
							Styrène	176
							Camphre	128
76	Camphre	187	77	D (+) limonène	120	78	Acide stearique	119
							R-limonène	210
							Myrcène	198
							Trans anéthol	135
79	vanilline	131	80	Camphre	207	81	camphre	103
				styrène	100			
82	Borneol	149	83	D (+) limonène	152	84	vanilline	160
	Myrcene	149					D (+) limonène	139
	R-limonène	100						
85	Camphre	133	86	vanilline	152	87	Camphre	182
	vanilline	101		D (+) limonène	135		eucalyptol	111
88	$\alpha$ -pinène	132	89	R-limonène	137	90	D (+) limonène	121
	D (+) limonène	129		Borneol	121			
				myrcène	118			
91	camphre	147	92	vanilline	185	93	vanilline	185

Le tableau 16 résume la composition chimique de l'huile essentielle synthétique.

**Tableau 16 :** Composition chimique de l'huile essentielle synthétique par IRTF

Le Score le plus élevé	Composé chimique	N° du spectre du chemigramme
340	D (+)-limonène	57
260	Camphre	72
207	Alcool cinamyl	44
206	Camphène	28
198	Myrcène	78
192	R-limonène	55
188	Benzophénone	47
185	Vanilline	59
176	Styrène	71
163	2-Hexanone	25
161	Furfural	25
160	Cis-stilben	47
159	Menthol	48
158	Acide stearique	44
157	$\alpha$ -pinène	70
154	borneol	35
149	Linalool	44
144	Thymol	44
136	Eugénol	29
135	Coumarine	47
135	Trans anéthol	78

Nous constatons que le temps d'élution des analytes à travers l'adsorbant solide est assez long.

L'analyse des résultats de tableau 15 montre la confusion dans l'identification des composés des spectres du chemigramme, Ceci induit à une erreur dans la proposition de la composition chimique de l'huile essentielle synthétique (tableau 16). Ceci est du probablement à la non adéquation du couple adsorbant-éluant étant cette séparation qui fait trainer les phénols jusqu'à un temps de 106 s, favorisant ainsi la modification de l'allure des spectres IRTF. Cette situation est accentuée par le fait que les analytes sont présents en proportion équimoléculaires et probablement peut être évité dans le cas où le produit est majoritaire dans l'huile essentielle.

#### IV.5 Identification des composés des huiles essentielles par spectroscopie AFC-IRTF

Les tableaux 17 à 31 montrent la composition chimique la plus probable de chaque huile essentielle par la procédure développée par spectroscopie IRTF et par rapport à la banque de données spectrales que nous avons créée et qui reste limitée dans cette étude.

Il y a lieu de noter que les huiles essentielles analysées par CG-SM et par AFC-IRTF ne sont pas les mêmes, bien qu'elles soient préparées de la même espèce. Les huiles essentielles et leurs résultats d'analyse CG-SM sont fournis par la même entreprise.

**Tableau 17 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Clémentine* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Cymène	347	13	0.29	+
Camphène	315	16	0.05	+

**Tableau 18 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Thym* par IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM [80] (%)	Concordance avec la littérature
Thymol	493	4	36 à 55	+++

**Tableau 19 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Clou de girofle* établie par IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM de la littérature (%)	Concordance avec la littérature
Eugénol	811	15	83.73 [40]	+++

**Tableau 20 :** Composition chimique de l'huile essentielle de *Cyprès* établie par IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Myrcène	379	25	2.39	++
$\alpha$ -pinène	322	22	60	+++
Camphène	321	12	0.21	+
R limonène	316	22	1.83	++
Linalol	300	23	0.20	+

Tableau 21 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* établie par IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
D(+) Limonène	321	22	-	-
Camphène	277	11	0.117	+
Camphre	275	22	-	-
Myrcène	259	20	0.60	+
Linalol	246	11	-	-
n-decane	232	56	-	-
$\beta$ -pinène	229	22	0.217	++
Bornéol	223	63	0.346	++
Acide gultarique	219	42	-	-
Cymène	209	63	-	-
eucalyptol	207	63	50%	+

Tableau 22: Composition chimique de l'huile essentielle de *Fenouil* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Camphène	409	28	0.25	++
Cymène	343	28	-	-
Camphre	343	59	0.14	++
Myrcène	294	29	-	-
D(+) Limonène	291	30	29.39	++

Tableau 23: Composition chimique de l'huile essentielle de *Genevrier* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
D(+) Limonène	241	29	4.06	++
Myrcène	202	23	3.07	++
$\beta$ -pinène	188	23	1.37	++
R Limonène	174	23	9.75	++

Tableau 24 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Menthe* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM de la littérature (%) [76]	Concordance avec CG-SM
Camphène	332	2	-	-
Cymène	295	32	-	-
Linalol	286	26	2.20	++
$\alpha$ -pinène	279	4	1.13	++
Alcool cinamyl	279	5	-	-
Eugénol	271	5	-	-

$\beta$ -pinène	251	2	0.68	++
Menthol	247	5	21.33	++

Tableau 25: Composition chimique de l'huile essentielle de *Menthe poivrée* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Menthol	586	48	32.93	+++
Cymène	401	46	-	-
Docosane	344	84	-	-
Camphène	323	21	-	-
B-pinène	316	52	1.54	+
Camphre	301	18	-	-

Tableau 26 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Myrte* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Myrcène	304	32	0.98	+
Camphène	288	20	0.16	+
Linalol	278	38	2.82	++
D(+)-Limonène	270	38	30.45	+

Tableau 27 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Oranger* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Camphène	446	13	-	-
Cymène	438	24	0.14	++
Myrcène	367	19	3.57	++
Bornéol	359	17	-	-
$\beta$ -pinène	334	19	-	-
Linalol	318	27	4.23	++
D(+)-Limonène	251	13	7.48	++
$\alpha$ -pinène	247	16	0.58	+

Tableau 28 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Pin d'alpe* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Camphène	313	23	0.38	++
Linalol	296	23	0.22	++
Myrcène	281	15	17.48	++
Bornéol	239	15	0.30	+

Tableau 29 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Lentisque* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
Myrcène	370	35	21.47	+++
$\beta$ -pinène	323	18	5.24	++
$\alpha$ -pinène	295	18	17.27	++
R Limonène	283	24	20.89	++
Camphène	252	36	2.03	++
Linalol	162	37	0.03	++

Tableau 30 : Composition chimique de l'huile essentielle d'*Anis étoilé* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Le score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM de la littérature (%) [39]	Concordance avec la littérature
Trans anéthol	759	13	90%	+++

Tableau 31 : Composition chimique de l'huile essentielle de *Citron* établie par AFC-IRTF

Composé chimique	Score le plus élevé	N° du spectre	Abondance relative par CG-SM (%)	Concordance avec CG-SM
D(+) Limonène	438	24	37.69	+++
Myrcène	313	30	1.43	++
Alcool cinamyl	241	44	-	-
Menthol	225	49	-	-
Camphre	218	15	-	-
Linalol	214	44	3.96	++
$\alpha$ -pinène	210	24	0.96	++
$\beta$ -pinène	202	3	12.47	+

En comparant l'absorbance relative obtenue par CG-SM et le score obtenu par AFC-IRTF, nous proposons le barème suivant :

- |     |                      |   |                    |
|-----|----------------------|---|--------------------|
| +++ | Concordance parfaite | + | Concordance faible |
| ++  | Bonne concordance    | - | Aucune concordance |

## *Conclusion générale*

## Conclusion générale

Trois principaux objectifs sont atteints à travers ce mémoire et ce, pour la première fois au sein de notre laboratoire de recherche.

- 1) La mise en marche d'un système d'analyse en flux continu (AFC);
- 2) L'exécution et la comparaison des deux logiciels « Mesures multiples » et « CHROM » permettant l'analyse en continu;
- 3) La création et l'exploitation d'une modeste banque de données spectrale IRTF de composés existant dans les huiles essentielles.

Un système d'AFC modifié a été utilisé, en exploitant l'option qu'offre l'OPUS permettant d'enregistrer un background et de le rappeler par la suite pour cette analyse.

Les deux logiciels; « Mesures multiples » et « CHROM » permettent l'analyse en flux continu. Cependant, le premier logiciel est laborieux et nécessite un temps d'analyse beaucoup plus important.

Une masse de 100 mg d'adsorbant diminue le coefficient de dispersion des analytes au sein de l'adsorbant et diminue par conséquent le temps d'analyse.

Les rendements de récupération des analytes qui peuvent se trouver dans les huiles essentielles en différentes proportions ou comme produit majoritaire sont du même ordre et ce, avec une bonne reproductibilité.

La détermination de la teneur des phénols dans les huiles essentielles est approximative car elle est calculée par rapport à une seule valeur de concentration de 10 mg.ml<sup>-1</sup> et non pas par l'extrapolation dans une droite de calibration.

La comparaison des teneurs obtenues par spectrométrie IRTF et par CG-SM donne des valeurs comparables indiquant que la méthode développée est prometteuse.

La classification des composés des huiles essentielles appartenant à la même classe chimique est réalisée.

La création d'une modeste banque de données spectrale de 43 spectres IRTF des composés pouvant existé dans les végétaux est effectuée.

L'identification des composés de l'huile essentielle synthétique éluee en continu à travers un support solide par spectrométrie IRTF, en exploitant la banque de données crée, indique une confusion dans l'identification des composés de spectres du chemigramme de l'huile essentielle synthétique. Ceci est du probablement à la modification de l'allure du spectre IRTF au cours de l'élution.

La procédure développée donne une identification comparable à la CG-SM dans le cas ou le composé se trouve majoritaire dans l'huile essentielle et par conséquent le phénomène de dispersion n'affecte pas l'allure du spectre IRTF.

Bien que les résultats obtenus aussi bien pour l'analyse qualitative et quantitative sont intéressants, l'étude n'est qu'à son état préliminaire, et des expériences complémentaires et plus approfondies (optimisation du système AFC, élargissement de la composante de la classe chimique, enrichissement de la banque de données spectrales...) sont nécessaires.

## Références bibliographiques

1. A-L.Smith, «Applied Infrared Spectroscopy», Chemical Analysis, Ed. Interscience, New York, 1979.
2. R-M. Silverstein, F. X. Webster, and D. Kiemle, « Spectrometric Identification of Organic Compounds», 7th ed., New York: Wiley, 2005.
3. A-L. Smith, « Treatise on Analytical Chemistry», 2nd ed., New York: Wiley, 1981.
4. J. Ruzika, E. Hansen, «Flow Injection Analysis», 2nd Ed., John wiley & sons, New York, 1988.
5. D.Betteridge, Anal.Chem., American chemical society, 1978.
6. B. Karlberg, G.E. Pacey, «Flow Injection Analysis: A Practical Guide», Elsevier, 1989.
7. R.Rosset, M.Caude et A.Jardy, « Manuel pratique de chromatographie en phase liquide», Masson, Paris, 1982.
8. A-N.Strohl et D.J.Curran, «Flow injection analysis with reticulated vitreous carbon flow-through electrodes», Anal. Chem., 1979.
9. H.Morita, T.Kimoto et S.Shimomura, «Flow injection analysis of mercury/cold vapour atomic fluorescence spectrophotometry», Anal Lett., 1983.
10. P-L.Meschi, D-C.Johnson et G.R.Luecke, «The coulometric response of tubular electrodes applied to flow injection determinations», Anal. Chim. Acta, 1981.
11. B.Persson et L.Rosén, «Flow injection determination of isosorbidedinitrate with polarographic detection», Anal. Chim. Acta, 1981.
12. H-B.Hanekamp, P.Bos et O.Vittori, «The applicability of phase-sensitive alternating current measurements in flow-through detection», Anal. Chim. Acta, 1981.
13. M-E.Meyerhoff et Y.M.Fraticelli, «Flow injection determination of ammonia-N using polymer membrane electrode-based gas sensing systems», Anal. Lett., 1981.
14. J.Ruzicka, J.W.B.Stewart, «Flow injection analysis, part II, ultrafast determination of phosphorus in plant material by continuous flow spectrophotometry», Anal. Chim. Acta, 1975.

15. J-I.Braithwaite, J.N.Miller, «Flow injection analysis with a fluorimetric detector for determination of glycine and albumin», *Anal.Chim.Acta*, **1979**.
16. D-K.Morgan, N.D.Danielson, J.E.Katon, «Aqueous flow injection analysis with Fourier transform infrared detection», *Anal. Lett.*, **1985**.
17. P.Maitoza (P.) et D.C.Johnson, «Detection of metal ions without interferences from dissolved oxygen by reverse pulse amperometry in flow injection systems and liquid chromatography», *Anal. Chim. Acta*, **1980**.
18. S.Garrigues et Miguel de la Guardia, «Flow Injection Analysis–Fourier Transform Infrared Spectrometry (FIA/FT-IR) », University of Valencia, Spain , **2006**.
19. Martin A.J.P. et Synge R.L.M., *Biochemical Journal*, **1941**.
20. AT James, AJP Martin, *Biochemical Journal*, **1952**.
21. A.D.Dempster, *Phys. Rev.* ,**1918**.
22. F. W. Aston, *Phil. Mag.* , **1919**.
23. J. De Graeve, F. Berthou, et M. Prost, «Methodes chromatographiques couplées à la spectrometrie de masse», Edition Masson, **1986**.
24. Halket et al., « Chemical derivatization and mass spectral libraries in metabolic profiling by GC/MS and LC/MS/MS », *Journal of Experimental Botany*, **2004**.
25. J.P. Durvelle, « chimie des parfums », Ed : Librairie centrale des sciences de forages, Girald & Cie, Paris, **1930**.
26. Association Française de Normalisation, 1986, Recueil de normes Françaises « Huiles essentielles », AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.
27. J. Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes medicinales, Partie03 : Terpenoydes et steroïdes*, Ed : Lavoisier, 2eme edition, Paris, **1993**.
28. J. Bruneton, « pharmacognosie: phytochimie plantes medicinales, techniques et documentation », 3ème Ed, la voisier, paris, **1999**.
29. L. Tao, and J. D. Lambert., « Polyphenols in the prevention and treatment of vascular and cardiac disease, and cancer », *Polyphenols in human health & disease* », **2014**.
30. J. Kuhnau., « The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition », *World Rev Nutr Diet.*, **1976**.

31. J-B. Harborne, « General procedures and measurement of total phenolics », In J.B. Harborne (Ed). *Methods in plant biochemistry*; London; academic press-volume plant phenolics, **1989**.
32. J.J Macheix, A. Fleuriet, C. Jay-Allemand, « les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolite secondaires d'importance économique », presses polytechnologiques et universitaires romandes, **2005**.
33. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, et M. Idaomar., « biological effects of essential oils » -A review, *Food and Chemical Toxicology*, **2008**.
34. G. Kozam, « the effect of eugénol on nerve transmission », *Oral Surg Oral Med Oral pathol* , **1977**.
35. T. Ohkubo et M. Shibata, « The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugénol and guaiacol », *J Dent Res*, **1997**.
36. JA, Garibaldi, J. Greenlaw et J. choi, « Fotovatjah M., Treatment of postoperative pain », *CDA Journal*, **1995**.
37. Ch. Pontillon., « Fermentation de la vanille : la vanilline », *Revue de botanique appliquée et d'agriculture colonial*, **1930**.
38. S. Kataria et al, « Gas Chromatography-Mass Spectrometry: Applications », *International Journal of Pharmaceutical & Biological*, **2011**.
39. X. Fan Song, « plantes médicinales chinoises introduites dans la pharmacopée française », Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier. Grenoble, France, **2013**.
40. Géraldine Chabert, « myrtacées et aromathérapie », Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier. Grenoble, France, **2013**.
41. L. Zekri, «Contribution à l'étude chimique des huiles essentielles de menthe, d'eucalyptus et de thym. Dosage de menthol dans la menthe et d'eucalyptol dans l'eucalyptus par spectrométrie IRTF», Thèse de master, Université de Blida 1, Algérie, **2011**.
42. A. Ouibrahim, «Evaluation de l'effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques (*Laurus nobilis L*, *Ocimum bacilicum L*, et *Rosmarinus officinalis L*.) de l'Est Algérien», Thèse de doctorat, Université badjimokhtar – Annaba, Algérie, **2014**.
43. S.Kebdani, «Détermination du taux de limonène dans différents extraits aromatique et médicinaux par spectrometrie infrarouge», Thèse de master, Université Blida1, Algérie ,**2011**.

44. DJ. Kritli, «Etude chimique et microbiologique de l'huile essentielle de calendula algeriensis», Thèse de master, Université de Blida1, Algérie, 2011.
45. M. Barkat, I. Laib, «Composition chimique et activité antioxydante de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*» génie industrie, 2011.
46. N.Fekih, « Propriétés chimiques et biologiques des huiles essentielles de trois espèces du genre pinus poussant en algerie», Thèse de doctorat , Université Abou bekr belkaid – Tlemcen, Algérie, 2014.
47. H-A. Lazouni<sup>1</sup>, A. Benmansour<sup>1</sup>, S-A. Taleb-bendlab<sup>2</sup>, D. Chabane sari<sup>2</sup>, «Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare Mill*» Sciences & Technologie C-N°25, 2007.
48. I. Bourahla, «Dosage de cuminaldéhyde dans l'extrait de Cumin et d'anisaldéhyde dans l'huile essentielle d'anis vert par spectrométrie IRTF», Thèse de master, Université Blida1, Algérie, 2011.
49. S. Didane, « Contribution à l'étude chimique de l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* et détermination de l'activité antimicrobienne», Thèse de master, Université de Blida1, Algérie, 2011.
50. N.Mohamed mahmoud, «Etude chimique de l'huile essentielle de *Bunium Fontanesii*, Tests d'activité biologique», Thèse de master, Université Blida1, Algérie, 2012.
51. S.Boubekri, «Etude chimique de l'algue rouge *Gigartina pistillata* ; etude chimique de l'activité antimicrobienne de *Gigartin apistillata*, *Laurenciapinnatifida* et *Ulva lactuca*», thèse de master, Université Blida 1, Algérie, 2011.
52. P-J. Teisseire, « Chimie de substances odorantes », Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 1991.
53. F. Bouvier, A. Rahier, B. Camara, «Biogenesis, molecular regulation and function of plant isoprenoids. Progress in lipid research», 2005.
54. S. Sekiou, «Etude chimique de l'huile essentielle de *Laurencia papillosa* détermination de l'activité antimicrobienne», Thèse de master, Université Blida1, Algérie, 2015.
55. N. Ighili, «Dosage de l'eugénol dans les clous de girofle (*Eugenia CaryophyllataThunb*) par spectrométrie IRTF, Etude de l'activité antimicrobienne et antioxydante de l'extrait des clous de girofle», Thèse de master, Université Blida1, Algérie, 2011.
56. N. Djellouli, «Etude phytochimique de l'algue rouge *Laurencia Obtusa* : détermination de l'activité antimicrobienne», Thèse de master, Université Blida1, Algérie, 2015.

57. P. Joseph-Nathan, R-L. Santilian, A. Gutierrez, «<sup>13</sup>C nmr study of cedrol, 6-isocedrol and α-cedrene», J. Nat. prod, **1984**.
58. B. Tomita, Y. Hirose, «Acoradiene and acorenol, key intermediates of cedrane group sesquiterpenoid, and their transformation into (-)-α-cedrene, tetrahedron Lett», **1970**.
59. F. Alejandro, Barrero et al, «Diterpenoids from tetraclinisarticulata that inhibit various human leukocyte functions», J. Nat. prod, **2003**.
60. Y-L. Chow, H. Erdtman, «Totarolone, a new diterpeneketophenol from heartwood of tetraclinisarticulata», Acta chemical scandinavica, **1960**.
61. K. Doi, T.shiyuba «Diterpenes of juniperus conferta», phytochemistry, **1972**.
62. B-P. Ying, I. Kubo «Complete 1H and 13C NMR assignments of totarol and its derivatives», phytochemistry, **1991**.
63. J-M. Fang, Y-C Sou, Y-H. Chiu, Y-S. Cheng, «Diterpenes from the bark of juniperus chinensis», phytochemistry, **1993**.
64. J-W. Apsimon, O-E. Edwards, «sandarac acids: 6β-Hy- droxysandaracopimaric acid» can. J. chem, **1961**.
65. A. förg, G. Leupold, H parlar, B. Weinreich, S. Grüner, F.Otto, «Supercritical fluid Extraction of *calendula officinalis* L in combination with adsorptive clean-up», journal of Eng. Life Sci2, **2002**.
66. D. Mooney, E. Antignac, E. Dufour, I. Bark, V. Srinivasan, G. Nohynek, «Application of the threshold of toxicological concern approach for the safety evaluation of calendula flower (*calendula officinalis*) petals and extracts used in cosmetic and personal care products», Food and chemical toxicology, **2009**.
67. D. Mooney, E. Antignac, E. Dufour, I. Bark, V. Srinivasan, G. Nohynek, «Application of the threshold of toxicological concern approach for the safety evaluation of calendula flower (*calendula officinalis*) petals and extracts used in cosmetic and personal care products», Food and chemical toxicology, **2009**.
68. C.Pizza, Z. Zhong-Liang, N. Tomas, plant metabolites. Triterpenoidsaponins from *calendula arvensis*.Journal of natural products, **1987**.

69. R.Chemli, A. Babadjamiay, R. Faure, K. Boukef, G. Balansard, E. Vidal, *arvensis* A and B, triterpenoidsaponins from *calendula arvensis*. *Journal of phytochemistry*, 1987.
70. L. Danielski, L. Campos, L. Bresciani, H. Hense, A. Rosendo, B. Yuness, «Ferreira marigold (*calendula officinalis* L.) oleoresin: solubility in SC-CO<sub>2</sub> and composition profile», *chemical engineering and processing*, 2007.
71. Z. Wqciechowski, M. Boche&KA6HRYNIEWICZ, B. Kucharczak, Z. Kasprzyk, «Stérol and triterpene alcohol esters from *calendula officinalis*», *Phytochemistry*, 1971.
72. S. Gordan, C. Cetkovi, M. Sonja Djilas, M.jasnacanadanovi. C. Brunet, T. VesnaTumbas, «Antioxidant properties of marigold extract.*Food research internationa*, 2004.
73. M.Ukiya, T. Akihisa, K. Yasukawa, H. Tokuda, T. suzuki, Y. kimura, «Anti-inflammatory, anti-tumor-promoting, and cytotoxic activities of constituents of marigold (*calendula officinalis*) flower», *Journal of natural products*, 2006.
74. M. Albulescu, N. Alexa, C. cojan, «*Calendula officinalis* flowers source of extract with antioxydant activity», *Annals of West university of Timisoara series chemistry*, 2004.
75. A. Bilia, M. Bergonzi, S. Gallori, G. Mazzi, F. Francesco Vincieri, «Stability of the constituents of *calendula*, Milk-thistle and passion flower tinctures by LC-DAD and LC-MS», *journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 2002.
76. L. Benseguenib-tounsi, «Etude in vitro de l'effet abtibactérien et antifongique d'I.viscosa-lawsonia-inermis-Asphodeluse-Microcarpus-aloevera-juniperusoxycedrus», Thèse de magister, Université de constantine, Faculté des sciences, Département vétérinaire, 2001.
77. A. San Feliciano, J-M. Miguel del corral, M. Gordaliza, A. Castro, «lignans from *juniperus Sabina*», *Phytochemistry*, 1990.
78. G. Adler, Z. Kasprzyk, «Free strols, steryl ester, glucosides, acylatedglucosides and water- soluble complexes in *calendula officinalis*», *Phytochemistry*, pregaman press, 2004.
79. S.Deriouch, «Etude chimique de l'huile essentielle d'*Euphorbia paniculata* syn. *algeriensis*. determination de l'activité biologique», Thèse de master; université Blida1, Algérie, 2012.

80. Mohammad Hudaib et al., «GC/MS evaluation of thyme (*T. vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative cycle», Elsevier, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Italie, 2002.

## Annexe

**Tableau I : Les principaux constituants donnés par CG-SM des huiles essentielles procurées**

Huile essentielle	Composés majoritaires	Teneur
Eucalyptus	- eucalyptol - $\alpha$ -pinéne - L-pinocarvéo	51% 24.6% 9.98%
Citron	- Limonéne - Acétate de néryle - $\beta$ -pinéne	24.6% 14% 12%
Climentine	- sabinéne - linalol	38% 13%
Menthe poivrée	- isomenthol - isomenthone - eucalyptol - carane	40% 24% 7.9% 8%
Genevrier	- $\alpha$ -pinéne - limonéne	22.6% 9.8%
Orange	- bicyclo [3.1.0] hexane-4-méthyléne-1-(1-méthylethyl) - D-limonéne	23% 7%
Pin d'alep	- $\alpha$ -pinéne + thujéne - myrcéne - $\beta$ -caryophylléne	31% 17% 25.8%
Cypré	- $\alpha$ -pinéne - $\Delta$ -3-caréne	60% 18%
Fenouil	- Bénéne-1-méthoxy-4-(1-propényl) - Limonéne	51% 29%
Myrte	- D-limonéne - $\alpha$ -pinéne	30.5% 22%
Lentisque	- $\alpha$ -pinéne - myrcéne - limonéne	17% 21.7% 20.9%