

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ BLIDA 1



Faculté des Sciences

Département de Chimie

Mémoire Présenté par

Melle MEHERHERA Rekia



En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine Science de la matière
Filière Chimie
Option Chimie des substances naturelles

Titre

***Détermination des composés phénoliques (phénylpropènes)
dans des huiles essentielles par la combinaison de la
spectrométrie IRTF-PLS***

Soutenu le 28 Septembre 2015, devant le jury composé de :

DAGHBOUCHE	Pr	Présidente	Université de Blida
BOUTEMAK	MCB	Examinatrice	Université de Blida
BOUZIDI	MCB	Promotrice	Université de Blida

MA-540-114-1

Remerciements

Avant tout je remercie ALLAH tout puissant de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens pour accomplir ce travail

J'adresse mes remerciements les plus sincères et les plus dévoués à Dr M. El Hattab maître de conférences à l'Université Saad Dahleb de Blida pour m'avoir donné la chance d'être parmi cette meilleure promo de Master

Je remercie spécialement Mme Y. Daghbouche Professeur à l'Université Saad Dahleb de Blida, pour sa gentillesse, son aide, ses conseils précieux et sa patience qui ont donné vie à ce travail et je suis très reconnaissante de tout ce qu'elle m'a apporté tant du point de vue scientifique que du point de vue personnel

Je remercie sincèrement Mme N. Bouzidi quelle trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance pour m'avoir accordé sa confiance et guidé dans mon travail. Ses conseils, la qualité de son encadrement et sa gentillesse, vrai mon merci pour le temps consacré

Je tiens à remercier

Professeur Y. Daghbouche, pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de soutenance

Je souhaite adresser mon remerciement les plus sincères à Mme K. Boutemak pour avoir accepté de faire partie de mon jury

A mes parents, mes frères, mes sœurs

A mes amies : Yasmina, Nabila, Hafidha et Karima pour vos aides, vrai mon merci.

Dédicaces

A mes chers parents,

A mes sœurs : Linda, Fatima

A mes frères : Abd El Halim, Ilyes, Idris

A ma belle sœur : Khadidja

A mon beau frère : Fateh

A les petits enfants de notre famille : Khalil, Maria, Chahd, Ritèdje

A ma grand-mère : Tawass

*A mes amies que j'ai vécu avec elles des beaux moments au cours
de mon cursus à l'université : Yasmina, Nabila*

*A mes amies de la promotion de master de Chimie des substances
Naturelles.*

A tous ceux qui me sont chers.

Résumé

Cette étude est consacrée au développement d'une calibration multicomposé PLS-IRTF pour la détermination simultanée des composés phénoliques (phénylpropènes) dans des huiles essentielles d'origine végétale.

Pour effectuer le modèle de calibration multivariable, vingt solutions étalon contenant les trois analytes (eugénol, trans anéthol, vanilline) avec différentes proportions sont utilisées.

La calibration a été établie avec deux modes d'intégration K et R, en considérant des bandes séparées (spécifiques) à 997 cm^{-1} , 967 cm^{-1} et 1690 cm^{-1} pour l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline, respectivement, et une bande commune à ces trois composantes à 1510 cm^{-1} pour déterminer la fraction phénolique (globale).

Les résultats de calibrage indiquent que le modèle PLS-IRTF est adéquat pour la détermination simultanée des trois analytes et de la fraction phénolique en fournissant un coefficient de corrélation compris entre 0.997 et 0.990 avec une erreur d'analyse faible d'ordre de 0.3.

L'analyse directe (sans traitement préalable) des huiles essentielles diluées dans CH_2Cl_2 avec ou sans ajouts fournies des concentrations prédites qui sont en accord avec les données bibliographiques. La bande commune aux composés phénoliques (phénylpropènes) confirme les résultats obtenus.

Mots clés : Calibration multivariable et multicomposé, spectrométrie IRTF, PLS, eugénol, trans anéthol, vanilline.

Abstract

This study is devoted to the development of a calibration multicomponents PLS-IRTF for the simultaneous determination of the phenolic compounds (phenylpropenes) in essential oils of vegetable origin.

To carry out the calibration model multivariate, twenty standard solutions containing the three compounds (eugénol, trans anéthol, vanilline) with various concentrations is used.

The calibration was established with two modes of integration K and R, by considering separate bands (specific) to 997 cm^{-1} , 967 cm^{-1} and 1690 cm^{-1} for eugenol, the trans anethol and vanillin, respectively, and a band common to these three components to 1510 cm^{-1} to determinate the phenolic fraction (all components at the same time).

The modeling results indicate that the PLS-FTIR model is adequate for the simultaneous determination of the three compounds and of the phenolic fraction by providing a correlation coefficient between 0.997 and 0.990 with a low error of analysis (0.3).

Direct analysis (without preliminary treatment) of the essential oils diluted in CH_2Cl_2 with or without additions provided the predicted concentrations which are in agreement with the bibliographic data. The band common to the phenolic compounds (phenylpropenes) confirms the got results.

Keywords : Multivariate calibration multicomponents, FTIR spectrometry, PLS, eugenol, trans anethol, vanillin.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تطوير المعايرة المتعددة المكونات PLS-ITRF لتحديد في آن واحد المركبات الفينولية (فينيل بروبان) في الزيوت الأساسية من أصل نباتي. لإنشاء نموذج المعايرة المتعدد المتغيرات تم استخدام عشرون محلول قياسي (أوجينول، أنتول العابر، فانيليا) بتركيز مختلفة.

تأسست المعايرة مع اثنين من وسائط التكامل R و K، باستخدام طول الموجات المنفصلة (الخاصة) إلى 997 سم⁻¹، 967 سم⁻¹ و 1690 سم⁻¹ من أجل الأوجينول، انيتول العابر و الفانيليا على التوالي، وطول موجة مشتركة لجميع المكونات الثلاثة إلى 1510 سم⁻¹ لتحديد جزء الفينول (جميع الأجزاء في نفس الوقت).

نتائج المعايرة تشير إلى أن النموذج PLS-IRTF هو النموذج المناسب للتحديد في آن واحد المركبات الثلاثة وجزء الفينول أعطت نموذج معامل الارتباط المحدود بين 0.997 و 0.990 مع خطأ تحليلي منخفض (0.3). التحليل المباشر (بدون معالجة مسبقة) للزيوت العطرية مخففة في CH₂Cl₂ مع أو بدون إضافات أعطت تراكيز التنبؤ متوافقة مع المعطيات الببليوغرافية. طول الموجة المشتركة للمركبات الفينولية (الفينيل بروبان) تؤكد النتائج المتحصل عليها.

الكلمات المفتاحية: المعايرة المتعددة المتغيرات و المتعددة المكونات، أوجينول، أنتول العابر، فانيليا، PLS

Liste des abréviations

IRTF	Infrarouge à Transformée de Fourier
PLS	Régression des moindres carrés partielle (Partiel Least Squares)
PLS-IRTF	Régression des moindres carrés partielle-Infrarouge à Transformée de Fourier
IR	Infrarouge
PIR	Proche Infrarouge
MIR	Moyen Infrarouge
LIR	Lointain Infrarouge
MLR	Régression linéaire multiple
PCR	Régression de composant principal
NN	Régression de réseaux neurologiques
LWR	Régression localement pesée
PLS (RBF-PLS)	Fonctions des bases radiales combinées avec PLS (RBF-PLS)
NIPALS	NonLinear Iterative Partiel Least Squares
FDA	Food and Drug Administration
ADI	Acceptable Daily Intake
CLHP	Chromatographie Liquide à Haute Performance

Tableau II.16 Résultats de prédiction des trois composés et la fraction 75
phénolique des huiles essentielles avant et après l'enrichissement

Liste des figures

Figure I.1	Interféromètre de Michelson	6
Figure I.2	Schéma représentative de la chimiométrie	8
Figure I.3	Structures chimiques des composés phénoliques (phénylpropènes) et leurs sources	19
Figure I.4	Eugénol	20
Figure I.5	Trans anéthol	20
Figure I.6	Vanilline	21
Figure II.1	Montage IRTF utilisé pour la détermination des étalons	26
Figure II.2	Spectre IRTF de l'eugénol préparé directement dans CH ₂ Cl ₂ (4 mg.ml ⁻¹)	27
Figure II.3	Spectre IRTF de trans anéthol préparé directement dans CH ₂ Cl ₂ (4 mg.ml ⁻¹)	28
Figure II.4	Spectre IRTF de la vanilline préparée directement dans CH ₂ Cl ₂ (4 mg.ml ⁻¹)	29
Figure II.5	Spectres IRTF des trois étalons : (rouge) eugénol, (bleu) trans anéthol, (vert) vanilline	30
Figure II.6	Modes d'intégration	31
Figure II.7	Spectres IRTF des trois étalons : (A) eugénol, (B) trans anéthol, (C) vanilline (5 mg.ml ⁻¹)	33

Figure II.8	Fenêtre de logiciel Quant 1 d'OPUS	35
Figure II.9	Assistant de l'éditeur de la méthode Quant 1	36
Figure II.10	Spectres IRTF de (1) eugénol, (2) trans anéthol, (3) vanilline, (4) spectre des trois étalons : (rouge) eugénol, (bleu) trans anéthol, (vert) vanilline (5 mg.ml ⁻¹)	40
Figure II.11	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour l'eugénol	43
Figure II.12	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour le trans anéthol	45
Figure II.13	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour la vanilline	47
Figure II.14	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour la fraction phénolique	49
Figure II.15	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour l'eugénol	56
Figure II.16	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour le trans anéthol	59
Figure II.17	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour la vanilline	62
Figure II.18	Représentation graphiques des paramètres analytiques pour la fraction phénolique	65
Figure II.19	Protocole de préparation de l'HE à partir de la matière végétale	67
Figure II.20	Protocole de la dilution directe des huiles essentielles dans CH ₂ Cl ₂	67

- Figure II.21** Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles diluées dans CH_2Cl_2 (1) anis étoilé (2) clous de girofle (3) armoise (4) carvi 68
- Figure II.22** Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles diluées dans CH_2Cl_2 (5) myrte (6) romarin (7) thym (8) zeste d'orange 69
- Figure II.23** Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles enrichies dans CH_2Cl_2 (1) anis étoilé (2) clous de girofle (3) armoise (4) carvi 73
- Figure II.24** Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles enrichies dans CH_2Cl_2 (5) myrte (6) romarin (7) thym (8) zeste d'orange 74

Table des matières

REMERCEMENT

DEDICACE

RESUME (français, anglais, arabe)

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

TABLES DES MATIERSS

Introduction générale **1**

CHAPITRE I : Partie théorique

I	Spectroscopie Infrarouge.....	5
I.1	Historique.....	5
I.1.1	Domaine spectral de la zone infrarouge.....	5
I.1.2	Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	5
I.1.3	Analyse qualitative et quantitative.....	7
I.2	Méthode de calibration multivariable.....	7
I.2.1	Chimiométrie.....	7
I.2.2	Calibration multivariable.....	9
I.2.3	Méthodes de régressions usuelles pour le calibrage multivariable.....	9
I.2.4	Régression des moindres carrées partielles (PLS : Partial Least Squares).....	9
I.2.4.1	Présentation.....	9
I.2.4.2	Historique.....	10
I.3	Description des plantes utilisées.....	11
I.3.1	Anis étoilé.....	11
I.3.1.1	Particularités botaniques.....	11

I.3.1.2	Classification.....	11
I.3.1.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	11
I.3.2	Clous de girofle (girofler).....	12
I.3.2.1	Particularités botaniques.....	12
I.3.2.2	Classification.....	12
I.3.2.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	12
I.3.3	Armoise.....	13
I.3.3.1	Particularités botaniques.....	13
I.3.3.2	Classification.....	13
I.3.3.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	13
I.3.4	Carvi.....	13
I.3.4.1	Particularités botaniques.....	13
I.3.4.2	Classification.....	13
I.3.4.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	14
I.3.5	Romarin.....	14
I.3.5.1	Particularités botaniques.....	14
I.3.5.2	Classification.....	14
I.3.5.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	14
I.3.6	Myrte.....	14
I.3.6.1	Particularités botaniques.....	14
I.3.6.2	Classification.....	15
I.3.6.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	15
I.3.7	Thym.....	15
I.3.7.1	Particularités botaniques.....	15
I.3.7.2	Classification.....	15
I.3.7.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	16

I.3.8	Zeste d'orange (orange douce)	16
I.3.8.1	Particularités botaniques.....	16
I.3.8.2	Classification.....	16
I.3.8.3	Composition chimique de l'huile essentielle.....	15
I.4	Huiles essentielles.....	16
I.4.1	Définition.....	16
I.4.2	Procédés d'extraction des huiles essentielles.....	17
I.4.2.1	Hydrodistillation.....	17
I.4.2.2	Entrainement à la vapeur d'eau.....	17
I.5	Description des composés phénoliques utilisés comme étalons.....	18
I.5.1	Généralité sur les composés phénoliques.....	18
I.5.2	Propriétés physico-chimiques des étalons utilisés.....	19
I.5.2.1	Eugénol.....	19
I.5.2.2	Trans anéthol.....	20
I.5.2.3	Vanilline.....	20
I.6	Synthèse des travaux antérieurs PLS-IRTF.....	21

CHAPITRE II : Partie expérimentale

II.1	Introduction.....	25
II.2	Appareillages et réactifs.....	25
II.2.1	Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	25
II.2.2	Réactifs.....	26
II.3	Spectres IRTF des étalons.....	26
II.3.1	Spectre IRTF de l'eugénol préparé directement dans CH ₂ Cl ₂	26
II.3.2	Spectre IRTF de trans anéthol préparé directement dans CH ₂ Cl ₂	27
II.3.3	Spectre IRTF de la vanilline préparée directement dans CH ₂ Cl ₂	28
II.4	Choix des conditions de travail.....	29

Introduction générale

Un grand nombre de plantes aromatiques, médicinales, et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes qui trouvent application dans divers domaines telles que la médecine, la pharmacie, la cosmétologie et l'agriculture [1].

L'importance et la valeur de ces plantes est relatif à leurs huiles essentielles qui sont constituées essentiellement de composés volatils [2].

La composition chimique des huiles essentielles est assez complexe, les composés terpéniques et aromatiques représentent les principaux constituants. On y trouve également, et en faibles concentrations des acides organiques, des cétones et des coumarines volatiles. La nature du composé majoritaire (phénol, alcool, aldéhyde, cétone...) joue un rôle principal dans l'efficacité de leurs effets biologiques [3]. Pour vérifier ces effets on fait recours au dosage des principes actifs quand ils sont connus.

Différentes techniques analytiques sont utilisées dans l'analyse des composés phénoliques dans les huiles essentielles. Néanmoins, la Spectroscopie infrarouge a été bien établie comme un outil utile pour l'élucidation de la structure et le contrôle de qualité dans diverses applications industrielles depuis quelques décennies. Le développement de la transformée de Fourier à pousser l'utilisation de cette technique et la rendre très employée pour l'analyse d'échantillons de diverses nature, en mélanges. L'intérêt de cette technique réside essentiellement dans sa rapidité et son caractère non destructif. Son utilisation est aussi due aux avancées de l'instrumentation et au développement des méthodes chimiométriques.

L'apparition de la nouvelle méthode de calibration multicomposée a facilité l'exploitation et l'obtention des différents paramètres analytiques de validation en un temps très rapide bien que, le principe théorique de cette méthode d'analyse est assez complexe.

La méthode de calibration multivariable la plus utilisée pour le traitement des données spectroscopiques IRTF est la régression des moindres carrés partiels (PLS). Les travaux réalisés dans ce domaine de recherche (PLS-IRTF) s'intéressent généralement, au développement de modèles dans les différentes zones du spectre de l'infrarouge (PIR-MIR-LIR), ou à la détermination simultanée d'analytes dans des matrices complexes.

Le dosage des métabolites secondaires est très important aussi bien pour la valorisation de la plante que pour la différenciation entre les différentes espèces. De ce fait le développement de nouvelle méthode de dosage est toujours d'actualité afin d'offrir un outil supplémentaire aux chercheurs travaillant dans les différents domaines.

Le travail entrepris dans le cadre de ce mémoire s'insère dans le large domaine des produits naturels, en se fixant un objectif :

Développement d'un modèle de calibration PLS-IRTF pour la détermination des phénols dans les huiles essentielles de plantes médicinales et aromatiques.

Ce mémoire est réparti en deux chapitres :

Le premier chapitre présente une partie théorique générale sur les connaissances de bases de cette étude suivi d'une synthèse des travaux antérieurs.

Le deuxième chapitre comporte une partie expérimentale qui a pour objet d'une part de sélectionner les conditions adéquates de travail, et d'autre part de développer un modèle de calibration multicomposé pour la détermination simultanée des composés phénoliques (eugénol, trans anéthol, vanilline) dans des échantillons d'huiles essentielles de différentes espèces anis étoilé, clous de girofle, armoise, carvi, romarin, myrte, thym et zeste d'orange.

Enfin, une conclusion générale résume les principaux résultats obtenus.

Chapitre I : Partie théorique

I Spectroscopie Infrarouge

I.1 Historique

Frédéric Wilhem Herschel découvrit le rayonnement infrarouge en 1800. En mesurant des températures dans différentes zones du spectre solaire, il constata que le maximum se situait à des longueurs d'ondes plus élevées que celles du domaine visible. Ces radiations furent appelées infrarouge par Becquerel vers 1870 [4].

Au début de XXe siècle, il n'existait que quelques spectromètres permettant d'étudier ces radiations. Le principe de ces spectromètres était basé sur la dispersion des longueurs d'onde par prisme puis par un réseau. La seconde moitié de ce siècle fut marqué par le développement rapide d'une instrumentation scientifique de plus en plus élaborée, à partir de 1975 avec les fulgurants progrès de la microinformatique [4,5].

Les années 1980 l'infrarouge connait une nouvelle jeunesse grâce aux progrès énormes de l'informatique qui ont permis le développement de l'interférométrie et de la transformée de Fourier pour donner naissance à la spectrométrie infrarouge à transformation de Fourier (IRTF) [4] ; Dès lors, il devint facile de stocker et de traiter des signaux, de les transformer et de mettre en œuvre des méthodes mathématiques et statistiques [5].

I.1.1 Domaine spectral de la zone infrarouge

La lumière infrarouge est une radiation de nature électromagnétique. Le spectre électromagnétique est généralement divisé en plusieurs régions : les rayons gamma, les rayons X, l'ultraviolet, le visible, l'infrarouge, les micro-ondes et les ondes radios fréquences [6].

Le rayonnement infrarouge se divise en trois régions : le proche infrarouge de 800 à 3000 nm, l'infrarouge moyen 3000 à 25000 nm et l'infrarouge lointain de 25000 à 10^7 nm. Ces subdivisions sont arbitraires et reposent essentiellement sur des critères d'appareillages et également sur le type d'informations accessibles dans chacun de ces domaines [4].

I.1.2 Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

La spectroscopie IRTF est une technique basée sur la détermination de l'interaction entre un rayonnement infrarouge et d'un échantillon qui peut être solide, liquide ou gazeux. Il mesure les fréquences qu'absorbe l'échantillon, ainsi que les intensités de ces absorptions. Les fréquences sont utiles pour l'identification de la composition chimique de l'échantillon en raison du fait que les groupes fonctionnels sont responsables de l'absorption du rayonnement à des fréquences différentes [7].

L'interféromètre de Michelson est le dispositif principal de ce type de spectromètre. Dans ce système le rayon lumineux peut prendre deux trajets optiques différents ce qui crée alors une interférence [6].

L'interférométrie se base sur la division, par une lame séparatrice, d'une lumière infrarouge polychromatique. Chaque moitié du signal infrarouge parcourt un trajet optique différent, la différence de trajet optique se traduit au moment de leur réunion par un déphasage. Ce déphasage est variable en fonction de la position du miroir mobile. La réunion des deux signaux au niveau du détecteur infrarouge engendre un signal d'interférence. La mesure précise du déphasage est primordiale ; elle est réalisée par un laser qui n'apparaît pas sur la figure II.1 [8].

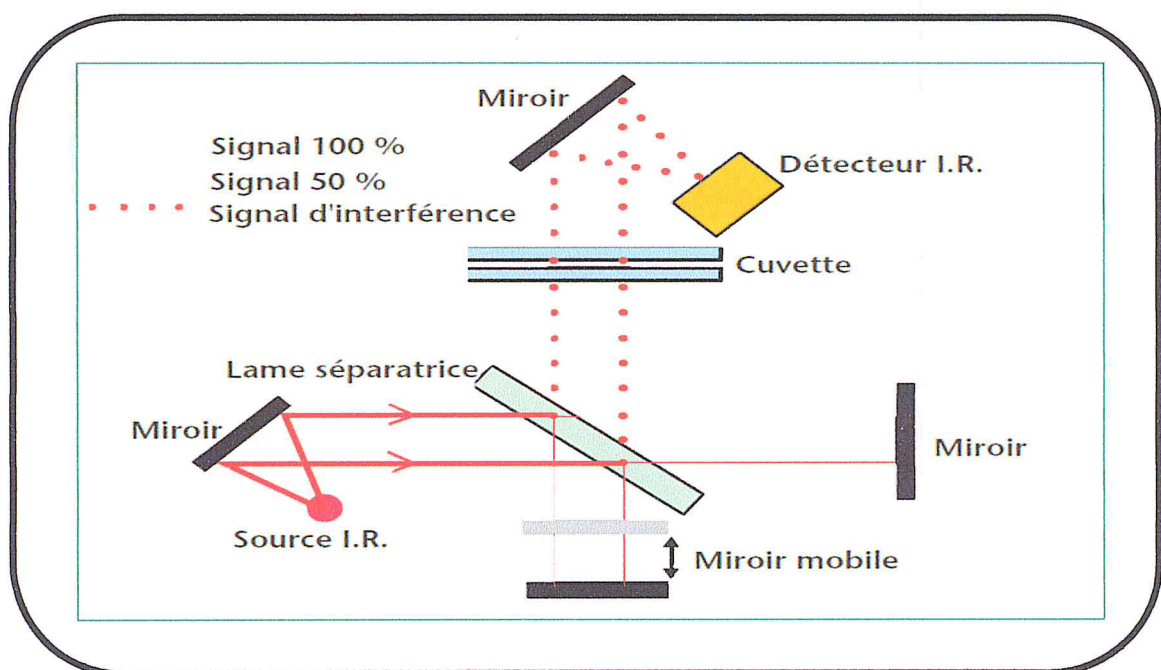


Figure I.1 : Interféromètre de Michelson

L'échantillon est placé dans le trajet des rayons lumineux à proximité du détecteur. Si le miroir mobile se déplace à une vitesse constante, un rayon lumineux monochromatique est à l'origine d'un signal électrique sinusoïdal. Pour une lumière polychromatique, le signal enregistré est appelé interférogramme. L'application de la transformée de Fourier permet d'obtenir les intensités en fonction des fréquences [6].

La spectrométrie IRTF possède un certain nombre d'avantages décisifs sur la spectrométrie classique car elle permet l'acquisition simultanée des caractéristiques de toutes les fréquences. Un spectre complet peut être ainsi généré très rapidement. L'intensité lumineuse est nettement plus élevée et la sensibilité de la détection et le rapport signal/bruit sont améliorés d'autant. La calibration des fréquences est beaucoup plus précise et plus stable à long terme que dans un instrument dispersif [9].

I.1.3 Analyse qualitative et quantitative

Le grand développement de la technique 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 étapes : (1) Identification des groupements fonctionnels de la structure. (2) Confirmation de la structure moléculaire par comparaison de la totalité du spectre avec celui d'un composé connu [10]. La concordance exacte entre le spectre d'un composé de structure connue et celui d'un analyte permet d'identifier ce dernier sans aucun doute possible, du fait qu'il n'existe pas deux composés de structure différente qui ont le même spectre IR (on parle "d'empreinte digitale" du composé) [11].

Les études quantitatives sont basées sur l'utilisation de la loi de Beer-Lambert qui établit une relation entre les mesures d'absorbances et la concentration des espèces à déterminer. Des analyses quantitatives à $\pm 10\%$ sont relativement aisées à obtenir, pour des analyses plus précises ($< 10\%$ en solution) il est nécessaire d'établir une courbe d'étalonnage et de s'assurer que les spectres sont enregistrés dans les conditions optimales [12].

I.2 Méthode de calibration multivariable

I.2.1 Chimiométrie

Les débuts de la chimiométrie datent de 1969 lorsque Jurs et ses collaborateurs ont publié des articles concernant l'utilisation d'une méthode, «Linear Learning Machine» permettant de classer les spectres de masse [13].

La chimiométrie (chemometrics) est la science de l'acquisition, de la validation et du traitement des données dans le domaine de la chimie analytique. Le développement des méthodes analytiques est intimement lié aux progrès chimométriques [14]. C'est un outil basé sur la construction, puis l'exploitation d'un modèle de comportement à l'aide d'outils statistiques. Il peut traiter des systèmes complexes et donc généralement multivariés [15].

La chimiométrie est l'application des principes de la métrologie et des mathématiques et statistiques à variables multiples pour extraire efficacement le maximum d'informations à partir des données. Elle peut être appliquée aux mesures sensorielles, chimiques et biologiques et typiquement quand des mesures multiples sont effectuées sur une série d'échantillons [16]. C'est un outil utilisé pour extraire des informations

pertinentes à partir de données physicochimiques mesurées. Pour ce faire, il faut tenter de construire un modèle reliant nos données mesurées aux données observées [17].

La chimiométrie est aujourd'hui appliquée à nombreux domaines de la chimie analytique, notamment aux méthodes séparatives telles que la chromatographie et l'électrophorèse et aux méthodes spectroscopiques telles que Raman, IRTF, SPIR, VIS-SPIR. Plusieurs domaines d'application bénéficient déjà des avantages apportés par la chimiométrie comme l'agroalimentaire, l'environnement et les géosciences, la pharmaceutique, le contrôle réactionnel industriel en temps réel et la criminologie [18].

La spectroscopie IRTF en combine avec la chimiométrie est une technique rapide, facile et conviviale avec l'environnement. En outre, l'utilisation de cette technique peut éliminer des étapes en rendant le protocole plus facile et peut même permettre une analyse directe sans aucun traitement préalable des échantillons, et ce, en permettant de fournir la précision, l'exactitude et l'information analytique et d'économiser beaucoup de temps [19].

L'analyse multivariable consiste à **modéliser** les variations d'un certain nombre de variables. Pour ce faire, deux opérations sont nécessaires à savoir l'étalonnage et la prédiction.

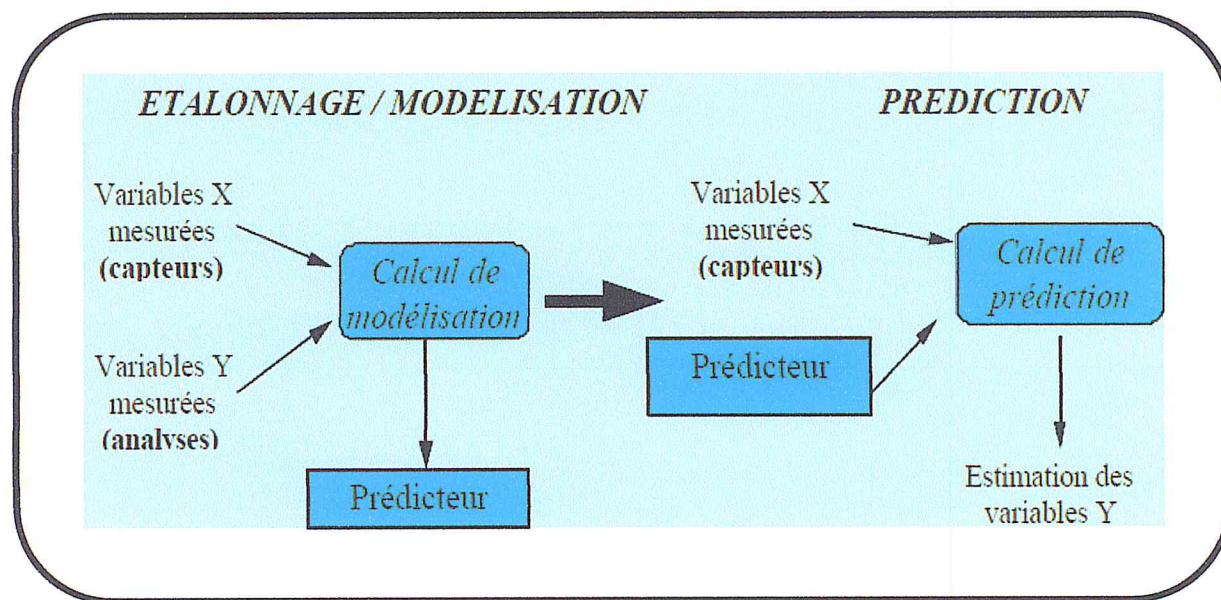


Figure I.2 : Schéma représentative de la chimiométrie

- **L'étalonnage** en laboratoire (ou **modélisation**) où toutes les mesures de variables doivent être réalisées où le modèle (ou «**prédicteur**») est calculé.
- **La prédiction**, utilisation courante «sur le terrain», où seules les variables X «faciles» sont mesurées, les autres, Y, étant calculées à l'aide du modèle [15].

I.2.2 Calibration multivariable

La calibration multivariée est l'application la plus réussie de la combinaison de la chimométrie et des données spectrales [20]. Les modèles multivariés de calibration sont d'importance pour beaucoup de mesures analytiques, en particulier pour des données spectroscopiques [21].

La calibration multivariée a toujours été une pierre angulaire majeure de la chimométrie appliquée à la chimie analytique. Cependant, il y'a un grand nombre de raisonnements de diverses écoles. Pour certains, la chimométrie implique la calibration multivariée. Certains groupes scandinaves et nord-américains ont fondé une grande partie de leur développement au cours des deux dernières décennies principalement sur les applications des algorithmes des régressions des moindres carrés partiels (PLS), alors que le texte classique par Massart et ces collègues ne mentionne pas l'expérience PLS. L'étalonnage multivarié est considéré par certains comme une grande batterie d'approches à l'interprétation des données analytiques [22].

I.2.3 Méthodes de régressions usuelles pour le calibrage multivariable

Il a été proposé plusieurs méthodes pour le calibrage multivariable, il s'avère que plusieurs de ces méthodes ne s'exécutent que pareillement pour éviter la confusion due à l'utilisation de beaucoup de différentes méthodes :

- Régression linéaire multiple (MLR)
- Régression de composant principal (PCR)
- Régression des moindres carrés partielle (PLS)
- Régression de réseaux neurologiques (NN)
- Régression localement pesée (LWR)
- Fonctions des bases radiales combinées avec PLS (RBF-PLS)

I.2.4 Régression des moindres carrés partielles (PLS : Partial Least Squares)

I.2.4.1 Présentation

La régression PLS est actuellement la méthode la plus connue et la plus utilisée dans de nombreux domaines. Elle a été introduite par Wold (1966) et a fait l'objet de nombreuses adaptations et développements [23].

La régression PLS (partial least squares, moindres carrés partiels) est une méthode de régression qui a reçue de très nombreuses applications pratiques, notamment en spectroscopie, dans les problèmes d'étalonnages de spectromètres et d'autres instruments

de mesure. Cette méthode a comme objectif de créer un modèle linéaire permettant d'estimer une ou plusieurs variables Y connaissant une matrice de données prédictives [24].

La régression PLS est donc une extension du modèle de régression linéaire multible. Dans sa forme la plus simple, un modèle linéaire spécifie la relation (linéaire) entre une (ou des) variable(s) dépendantes (réponses) Y et un ensemble de variable de prédictives X telles que :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_pX_p$$

Où les b_i sont les coefficients de régression.

La régression PLS est une technique récente qui généralise et combine les caractéristiques de l'analyse sur composantes principales et de régression multiple. Elle est particulièrement utile quand on a besoin de prédire un ensemble de variables dépendantes à partir d'une ensemble très grande variable explicative (prédicteurs) qui peuvent être très fortement corrélées entre elles.

La principale originalité de la régression PLS est de préserver l'asymétrie de la relation entre les prédicteurs et les variables dépendantes, contrairement aux autres techniques qui les traite symétriquement [25].

La PLS est basée sur la construction de facteurs à partir des données spectrales initiales. Le but de cette méthode est de réduire la quantité de données et d'éviter ainsi les problèmes de surentraînement sans éliminer les informations utiles. Les composantes ou variables de la nouvelle base vectorielle, dites variables latentes, sont des combinaisons linéaires des variables dans l'ancienne base.

La condensation des données se fait donc suivant les directions les plus pertinentes en termes de prédiction des variables Y. La régression sur la matrice des variables latentes est utilisée pour construire l'équation de prédiction.

Il existe de nombreuses versions de l'algorithme de régression PLS. Elles diffèrent au niveau des normalisations et des calculs intermédiaires, mais elles aboutissent toutes à la même régression. Il existe une distinction dans l'application de la méthode de régression PLS. Il faut séparer le cas où il y'a une seule variable Y à prédire de celui où en a plusieurs. Dans le premier cas, on parle de régression PLS univariée (PLS1) et dans le second cas de régression PLS multivariée (PLS2) (Vigneau et al.2006) [24].

1.2.4.2 Historique

1960 : Herman Wold [26] publie un ouvrage introduisant le PLS, alors appelée NonLinear Iterative Partial Least Squares NIPALS. Un modèle conçu pour l'estimation des

modèles d'équations structurelles sur les variables latentes. Il en résulte une représentation "classique" de la régression PLS sous la forme d'un algorithme.

1983 : Svante Wold (le fils d'Herman) et Harold Mertent [27] adaptent NIPALS au problème de régression avec trop de prédicteurs et appellent PLS cette adaptation de l'algorithme.

1990 : Stone et Brooks [28] introduisent le PLS dans le contexte du "Continuum Régression" (elle ajoute un paramètre contenu λ autorisant la méthode de modélisation à varier continuellement entre MLR "Multiple Linear Régression" ($\lambda=0$), PLS ($\lambda=0.5$) et PCR "Principal Component Régression" ($\lambda=1$)). Ce qui signifie une première projection sérieuse du PLS dans un contexte statistique.

1998 : Tenenhaus [29] écrit un ouvrage entièrement en français dédiée à cette méthode.

I.3 Description des plantes utilisées

I.3.1 Anis étoilé

I.3.1.1 Descriptions botaniques

L'anis étoilé, *Illicium verum* est un très bel arbuste badianier chinois, il est toujours vert, à cyme pyramidal, qui peut atteindre 8 m de hauteur et dont le tronc est une écorce blanche. Les feuilles brillantes lisses lancéolées et allongées. Les grandes fleurs solitaires sont jaunâtres ou rosées. Les fruits sont à forte odeur (anisée) et de saveur agréable, se sont des follicules constituées de huit carpelles qui forment une étoile à 8 branches qui sont cueillies vertes et seront séchées au soleil et prennent la couleur marron [30].

I.3.1.2 Classification

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Illiciales (Austrobaileyales)

Famille : Illiciaceae (Schisandraceae)

Genre : Illicium

Espèce : Verum Hook [31].

I.3.1.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de l'anis étoilé contient 80 à 90 % de trans-anéthol (E-anéthol) et d'huile grasse, flavonoïdes (quercétine et kaempférol), tanins, acides phénols (acide shikimique, acide caféine...), les autres composants de l'huile essentielle sont : des

monoterpènes (limonène, α -pinène), estragol, anisaldéhyde, linalo et le 2-(1-cyclopentényl)-furane [32].

I.3.2 Clous de girofle (girofler)

I.3.2.1 Descriptions botaniques

Le girofler est un arbre de 10 à 20 m de haut dans les régions tropicales, humides et chaudes. Ses fleurs rougeâtres ont 4 pétales blancs crème et sont regroupées en cyme.

Le feuillage est touffu et persistant, les feuilles font de 8 à 12 cm de long et 3 à 5 cm de large ; le limbe est ponctué de petits points (à peine visibles à la loupe) correspondant aux poches sécrétrices d'huile essentielle. Le fruit est une baie très rouge. Les fameux clous de girofle sont des floraux pas encore épanouis ; ils sont formés d'un tube d'un centimètre environ qui s'élargit au sommet en forme de croix. La partie supérieure du clou, appelée « tête », est formée des 4 pétales de corolle enroulés sur eux-mêmes en une petite sphère [33].

I.3.2.2 Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Trachéophyte

Embriochement : Spermatophytes ou Phanérogames

Sous-embriochement : Angiospermes

Classe : Dicotyledonae

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : Eugenia

Espèce : Eugenia cayophyllata Thunb [34].

I.3.2.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de clous de girofle contient 70 à 83 % (eugénol), 20 % esters (acétate d'eugényle), 5 à 6 % des sesquiterpènes et β -caryophyllène 4 %... [33].

I.3.3 Armoise

I.3.3.1 Descriptions botaniques

L'armoise est une plante vivace à ligneuse, rampante et fibreuse. La tige qui peut atteindre 1.5 m, est herbacée, cylindrique, striée, rougeâtre. Les fleurs jaunes sont groupées en petits capitules. Le fruit est ovale et lisse [35].

I.3.3.2 Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Trachéobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : Artemisia

Espèce : Artemisia vulgaris [36].

I.3.3.3 Composition chimique de l'huile essentielle

La composition de l'huile essentielle d'armoise est hautement variable. On note la présence constante de camphre, bornéol. D'autres composés sont souvent retrouvés tels que l'eucalyptol et le β -pinène [37].

I.3.4 Carvi

I.3.4.1 Descriptions botaniques

Carvi *Carum carvi L.*, est une plante bisannuelle, sa tige est fine et cannelée. Les feuilles sont oblongues et les fleurs blanches parfois roses se présentent en ombelles. Ses graines sont de 5 mm de mesure. Sa taille ne dépasse pas les 60/75 cm de haut au maximum [30].

I.3.4.2 Classification

Règne : Plantae

Classe : Angiospermes

Ordre : Apirals

Famille : Apiaceae

Genre : Carum

Espèce : Carum carvi L [38].

I.3.4.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle du carvi contenant majoritairement de la S-carvone (50 à 80%) et du (R)-limonène (35 à 49 %). Ces deux composés représentent entre 90 et 98 % de l'huile essentielle. Les autres constituants sont le myrcène, l' α -phellandrène, le p-cymène, le β -caryophyllène et des isomères de la dihydrocarvone, du dihydrocarvéol et du carvéol [39].

I.3.5 Romarin

I.3.5.1 Descriptions botaniques

Le romarin est un arbrisseau peut atteindre jusqu'à 1.5 m de hauteur, il est facilement reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. La couleur des fruits varie du bleu pâle au violet [30].

I.3.5.2 Classification

Règne : Plantae

Division : Magnoliopta

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Rosmarinus

Espèce : Rosmarinus officinalis [30].

I.3.5.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle du romarin (1 à 2 % dans la plante) contient : de α -pinène (7 à 80 %), de la verbinone (1 à 37 %), du camphre (1 à 38 %), de l'eucalyptol (1 à 35 %), du bornéol (4 à 19 %), de l'acétate de bornyle (jusqu'à 10 %) et du camphène [1].

I.3.6 Myrte

I.3.6.1 Descriptions botaniques

Le myrte est un arbuste de 2 à 3 mètres de hauteur, buissonnant et touffu aux feuilles brillantes. Le myrte à des rameaux brun-rouge, les feuilles sont persistantes, ovales

et pointues, de couleur vert foncé assez luisantes, elles sont coriaces. Ses fleurs sont blanches au parfum sucré, elles donnent des petites baies noires en automne [33].

I.3.6.2 Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Eucaryotes

Embroyement : Spermaphytes

Sous-embroyement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : Myrtus

Espèce : Myrtus Communis L [40].

I.3.6.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de myrte contient α -pinène 28.5 à 30 %, 1,8-cinéole 15.3 à 28.8%, linalol 1%, acétate de linalyle, myrténal, cadinène 2.5 % [33].

I.3.7 Thym

I.3.7.1 Descriptions botaniques

Les thym (Thymus) sont des plantes basses sous-ligneuses, pouvant atteindre 40 cm de hauteur. Ils possèdent de petites feuilles recourbées sur les bords de couleur verte foncé, et qui sont recouvertes de poils et de glandes [41].

I.3.7.2 Classification

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Astéridae

Ordre : Limiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Thymus

Espèce : Thymus vulgaris [42].

I.3.7.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle de *thymus vulgaris* est également de type monoterpénique (93.9 %), avec une proportion sensiblement identique de monoterpènes hydrocarbonés (45 %) et de monoterpènes oxygénés (48.9 %). Le principal constituant de la fraction oxygénée est de thymol (40.1 %). Parmi les monoterpènes hydrocarbonés, on peut citer le p-cymène (23.4 %) et le γ -terpinène (15.1 %) [43].

I.3.8 Zeste d'orange (orange douce)

I.3.8.1 Descriptions botaniques

L'oranger a une hauteur de 2 à 3 m et d'une durée de vie de 300 à 400 ans, les orangeraias prospèrent dans les régions tempérées disposant d'un hiver doux. Ils ont besoin de beaucoup de soleil, de chaleur et d'eau. La différence de température entre l'été et l'hiver et entre le jour et la nuit est importante pour le développement correct de la saveur et de la couleur. Son nom scientifique est devenu *Citrus sinensis* [44].

I.3.8.2 Classification

Règne : Végétale

Embranchement : Spermaphytes

Sous-embranchement : Angiospermes

Classe : Eudicotylédones

Sous-classe : Rosidées

Ordre : Rurales

Famille : Rutaceae

Genre : Citrus sinensis [45].

I.3.8.3 Composition chimique de l'huile essentielle

L'huile essentielle des oranges contient les monoterpènes 89-91 % de l'huile (d-limonène 83-90 %), les hydrocarbures (α -pinène 0.5 %, β -pinène 1 %, myrcène 2 %, γ -terpinène 0.1 %), les aldéhydes 1.8 % de l'huile, les alcools 0.9 % de l'huile et les esters 2.9% de l'huile [44].

I.4 Huiles essentielles

I.4.1 Définition

Une huile essentielle est une essence concentrée qui est odorante et volatile, provenant de plantes aromatiques que l'on extrait par divers moyens et les recueille sous

forme liquide et volatile. La composition des huiles essentielles est très complexe : terpènes, aldéhyde, cétone, phénol, lactone, ester, en sont les composants principaux. Les huiles essentielles sont solubles dans l'huile et dans l'alcool, mais pas dans l'eau [46].

Elles sont bien connues par leurs bienfaits comme agents antimicrobiens qui pourraient être employés pour commander la détérioration de nourriture et les bactéries pathogènes portées par les aliments [47-48].

Les huiles essentielles peuvent être obtenues par expression, mais la méthode de distillation par la vapeur est la plus utilisée généralement pour leur production commerciale [49].

I.4.2 Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate et la plus importante du processus. Elle a pour but d'isoler les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal. De nombreux procédés sont utilisés pour l'extraction de ces substances [50].

Les protocoles d'extraction les plus utilisés dans la préparation des huiles essentielles sont l'hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.

I.4.2.1 Hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [51].

I.4.2.2 Entraînement à la vapeur d'eau

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le protocole de l'entraînement à la vapeur a été mis au point. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur est pulsée. Les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentin réfrigéré. La récupération de l'huile essentielle est la même que dans le cas de l'hydrodistillation [52-54].

I.5 Description des composés phénoliques utilisés comme étalons

I.5.1 Généralité sur les composés phénoliques

Les métabolites secondaires des végétaux peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes, par opposition aux métabolites primaires (protéines, lipides et glucides) qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal. Ces métabolites secondaires exercent cependant une action déterminante sur l'adaptation des plantes à leur environnement. Ils participent ainsi, de manière très efficace, à la tolérance des végétaux à des stress variés (attaques de pathogènes, prédateurs d'insectes, sécheresse, lumière UV...).

On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties des plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

On peut classer les métabolites secondaires en plusieurs grandes groupes : parmi ceux-ci, les composés phénoliques, les terpènes et stéroïdes et les composés azotés dont les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [55].

Les phénols forment un groupe très vaste de substance qu'il est souvent difficile de définir correctement (tableau 1, annexe). Ils contiennent dans leurs structures un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction éther [56],...

Les composés phénoliques participent activement aux interactions de la plantes avec son environnement en jouant soit le rôle des signaux de reconnaissance entre les plantes (allélopathie), entre les plantes et les symbioses [57].

Les composés phénoliques sont obtenus par deux grandes voies d'aromagenèse : La voie de l'acide shikimique [56] (la voie de shikimate "biosynthèse des composés aromatiques «phénylpropènes» [58] comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, l'estragol et d'autres ") [59], et la voie de l'acétate, mais peuvent être également obtenus par une biogenèse mixte avec la participation du shikimate et de l'acétate (le cas des flavonoïdes, stilbène, pyrones, xanthonés,...) ou par le mévalonate avec le shikimate dans la biosynthèse d'autres dérivés mixte (le cas de certaines quinones ou comme le furano- et les pyranocoumarines). Les notions biosynthétiques évoquées permettent de bien cerner la notion de composé phénolique : dérivé non azoté dont le cycle aromatique est principalement issu du métabolisme de l'acide shikimique ou/et de celui d'un polyacétate [56].

I.5.2 Propriétés physico-chimiques des étalons utilisés

La figure I.3 montre les structures chimiques des composés phénoliques utilisés dans cette étude et leurs sources.

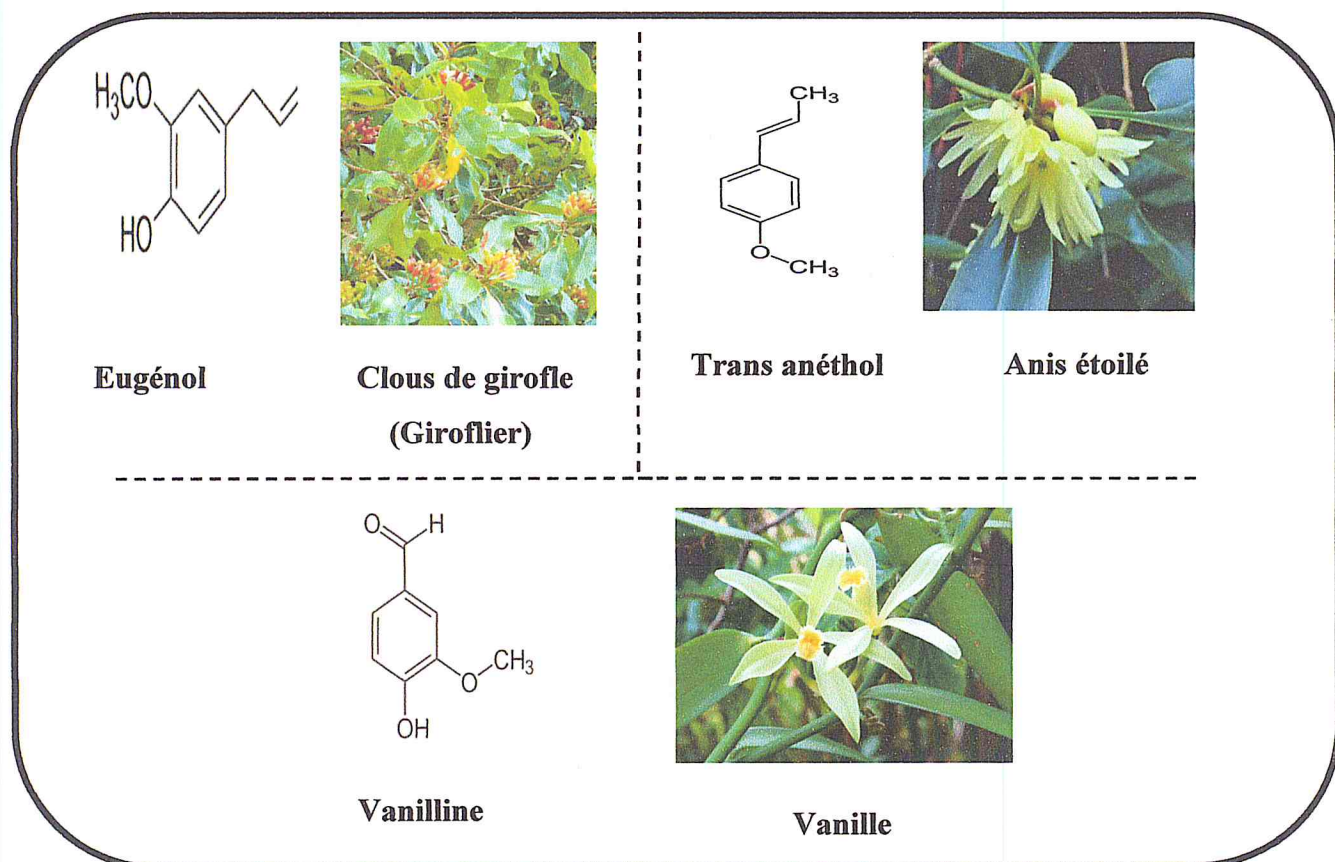


Figure I.3 : Structures chimiques des composés phénoliques (phénylpropènes) et leurs sources

I.5.2.1 Eugénol

L'eugénol est un composé aromatique dérivé de la voie de biosynthèse du phénylpropène, généralement, il est extrait du cinnamon en tant que produit mineur, aussi de clous de girofle comme commandant [60].

L'eugénol est un phénol autorisé par la FDA (Food and Drug Administration) comme ingrédient alimentaire. La valeur ADI (Acceptable Daily Intake) a été fixée à 2,5 mg/kg [61].

Il a une huile jaune clair pâle avec une odeur agréable et un goût épicé, peu soluble dans l'eau [62].

Il est beaucoup utilisé en médecine dentaire pour sa propriété d'anesthésique local [63-66] (figure I.4).

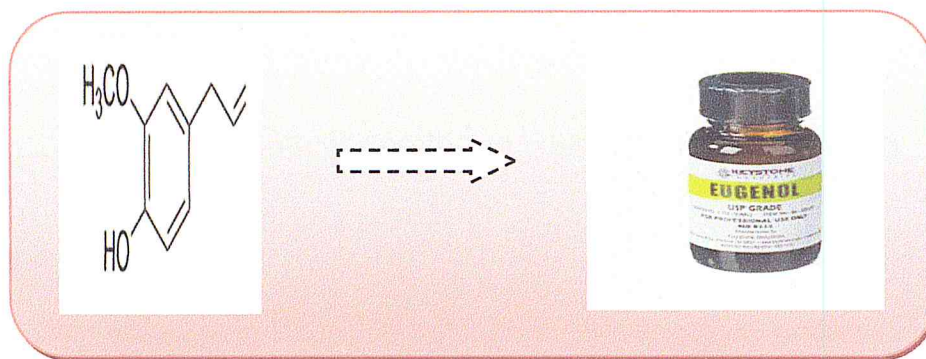


Figure I.4 : Eugénol

L'eugénol était déjà utilisé au siècle dernier comme anti-infectieux contre la tuberculose et la gangrène bronchique [67]. Depuis, d'autres propriétés lui ont été découvertes, comme par exemple l'effet anti-inflammatoire [68], l'effet antibactérien [69], anti-cancers [70], anti-oxydantes [71].

I.5.2.2 Trans anéthol

Le trans anéthol est un composé organique qui est largement utilisé dans l'industrie des parfums. Dans certains pays, il est utilisé dans les industries alimentaires et pharmaceutiques. Récemment, il a été étudié et considéré comme insectifuge. Les isomères naturels de l'anéthol se trouvent dans les variétés de plantes anis étoilé, camphre et fenouil. Le trans anéthol est extrait de ces plantes par un procédé d'écrasement et d'évaporation de l'eau [72] (figure I.5)

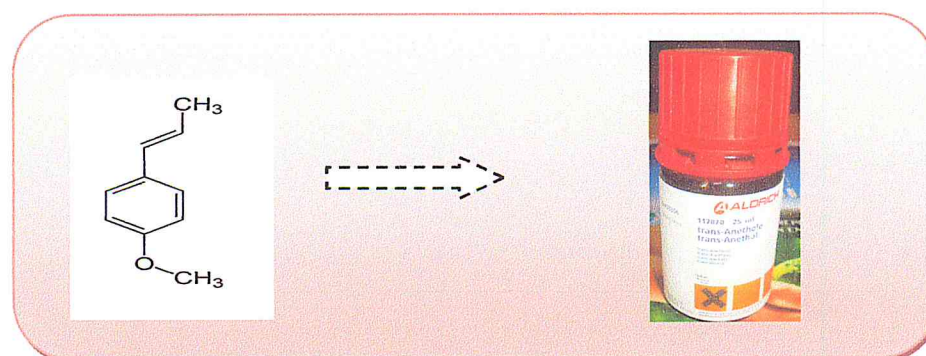


Figure I.5 : Trans anéthol

I.5.2.3 Vanilline

La vanilline est le principe aromatique auquel la vanille doit son parfum principal. Isolée de la vanille ou préparée par la synthèse, elle se présente sous forme d'aiguilles blanches fondant à 80-84°C, et bouillante 285°C. Sa solubilité dans l'eau est de 1% à froid et de 5% à 78°C. Elle est très soluble dans l'alcool, l'éther, le chloroforme et les huiles [73] (figure I.6).

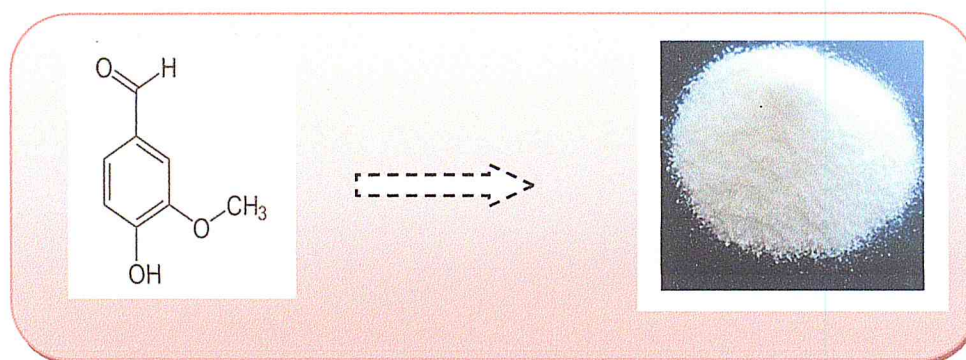


Figure I.6 : Vanilline

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

Tableau I.1 : Propriétés physico-chimiques d'eugénol, trans anéthol et vanilline

Composés phénoliques	Nom UIPA	Formule brute	Masse molaire g.mol ⁻¹	Température d'ébullition °C	Masse volumique g.cm ⁻³
Eugénol	2-méthoxy-4-(2-propényl)-phénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	253	1.066
Trans anéthol	Trans-1-méthoxy-4-(prop-1-enyl) benzène	C ₁₀ H ₁₂ O	148	234	0.99
Vanilline	4-hydroxy-3-méthoxybenzaldéhyde	C ₈ H ₈ O ₃	152	285	1.05

I.6 Synthèse des travaux antérieurs PLS-IRTF

Différents travaux ont été menés en utilisant le PLS-IRTF et en s'intéressant d'un côté aux régions spectrales de mesure dans les différentes zones de l'infrarouge IRTF (PIR-MIR-LIR) et d'autre côté aux matrices ciblées.

❖ *D'après Julia Kuligowski et al [74].*

Le but principal de ce travail consiste à déterminer la lécithine et l'huile de soja dans les compléments alimentaires par spectrométrie IRTF en combinaison avec une méthode régression des moindres carrés partiels (PLS). Deux modèles différents de PLS ont été développés. L'utilisation de 16 mélanges synthétiques de substances à analyser dans le dichlorométhane, dans une gamme spectrale allant de 931.8 cm⁻¹ à 1252.3 cm⁻¹ pour la lécithine et de 911.4 cm⁻¹ à 1246 cm⁻¹ et 1695.3 cm⁻¹ à 1774.5 cm⁻¹ pour l'huile de

soja ont été analysés. Sept produits du marché Espagnol avec des concentrations de lécithine entre 21.1% et 99.1% et d'huile de soja entre 0% et 37.2% ont été analysés par la méthode proposée. Pour les échantillons enrichis, des quantités comprises entre 50 mg et 250 mg de lécithine et de soja ont été ajoutées. L'exactitude obtenue varie entre 98.0% et 102.1% et entre 93.6% et 102.0%, et la précision moyenne varie de 0.35% et 0.41% pour la lécithine et l'huile de soja, respectivement. Les données obtenues ont été comparées à une méthode de référence chromatographique (CLHP). Les résultats des deux méthodes concordent.

❖ *D'après Julia Kuligowski et al [75].*

L'intérêt de cette étude était de développer une méthode verte pour la détermination des triacylglycérides polymérisés PTG dans les huiles de friture de légumes de différentes origine botanique et ce, par l'utilisation de la spectroscopie proche infrarouge et les régressions des moindres carrés partiels (SPIR-PLS). Quatre types d'huiles différentes ont été chauffées pendant plusieurs heures, avec et sans addition des produits alimentaires. Les spectres de transmission SPIR ont été obtenus directement à partir des fractions aliquotes d'échantillons stockés dans des flacons en verre en évitant ainsi la consommation de solvants et en minimisant la production de déchets. Un modèle de PLS global à l'aide des spectres de chacun des quatre types d'huiles a été comparé aux modèles de PLS fixés pour chaque type d'huile. En raison des faibles différences observées dans les spectres du proche infrarouge qui peuvent être liés à l'origine botanique et aux résultats obtenus à partir de la comparaison des modèles de PLS, l'utilisation d'un modèle global de PLS est recommandé ce qui a conduit à des erreurs de prédiction de 2.28% (v/v) dans la détermination de PTG des huiles de friture.

❖ *D'après Sergio Armenta et al [76].*

Le but de ce travail était de développer une procédure d'analyse par spectroscopie IRTF-ATR-PLS pour déterminer la concentration de composantes chimiques telles que le glucose, le fructose, le saccharose et l'éthanol pendant la fermentation de nectar d'ananas. Cette méthode de couplage fournit simultanément une bonne estimation pour les quatre analytes utilisés, ce qui permet d'obtenir une erreur quadratique moyenne de l'étalonnage pour le glucose, le fructose, le saccharose et l'éthanol égale à 0.0040, 0.021, 0.063, et 0.074% (v/v) respectivement, et une erreur relative de validation de 2.9, 2.1, 2.6 et 3.6% (v/v) respectivement. Les résultats obtenus lors de cette étude ont été comparables à ceux obtenus avec une méthode spectroscopique de référence (UV-Visible).

Chapitre II : Partie expérimentale

II.1 Introduction

La chimiométrie est aujourd'hui appliquée à nombreux domaines de la chimie analytique, notamment aux méthodes spectroscopiques telle que la spectrométrie IRTF [18].

L'objectif principal de ce travail a été l'utilisation d'un logiciel Quant 1 d'OPUS pour développer une calibration multicomposé (PLS-IRTF).

Dans cette étude, nous allons optimiser les différents paramètres analytiques ainsi que les conditions opératoires. L'application concerne la détermination des composés phénoliques (phénylpropènes : eugénol, trans anéthol, vanilline) dans une série d'huiles essentielles diluées directement dans le solvant sans traitement préalable en considérant des bandes spécifiques et une bande commune aux trois étalons étudiés.

Ce travail a été réalisé au laboratoire de chimie des substances naturelles du département de chimie, faculté des sciences et au laboratoire des plantes médicinales et aromatiques du département d'agronomie, faculté d'agro-vétérinaire, Université de Blida.

II.2 Appareillages et réactifs

II.2.1 Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)

Un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) de marque Bruker type Tensor 27, équipé d'un détecteur sulfate triglicine deutéré DTGS à température ambiante, d'une source infrarouge moyen ($4000-400\text{ cm}^{-1}$), 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 la phase liquide sont soit en fluorure de baryum (BaF_2) avec une entretoise en téflon de 0.1 mm d'épaisseur, ou bien en chlorure de sodium (NaCl) avec une entretoise en téflon de 1 mm d'épaisseur. Les tubes de connections sont en téflon avec un diamètre intérieur de 0.8 mm et le chargement est réaliser en employant des tubes de chlorure de polyvinyle de diamètre intérieur de 2.79 mm. L'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scan égal à 10 spectres ou bien des résolutions de 4 cm^{-1} et 2 cm^{-1} et un nombre de scan égal à 20 spectres par rapport à un background stabilisé préalablement dans les même conditions instrumentales avec une cellule remplie de solvant pur utilisé pour la préparation des solutions (CH_2Cl_2 stabilisé avec l'amylène).

L'introduction des solutions a été avec un système à écoulement bloqué avec une cellule de flux. L'avantage d'une telle cellule est d'éviter les inconvénients relatifs au

nettoyage et au remplissage des cellules conventionnelles et de minimiser la consommation des solvants organiques et de réduire le temps d'analyse.

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. Les spectres enregistrés sont traités à l'aide d'une macro qui a été construite à partir de logiciel intégré Quant 1 d'OPUS pour faire la calibration multicomposé.

La figure II.1 montre l'instrumentation utilisée pour effectuer les mesures.

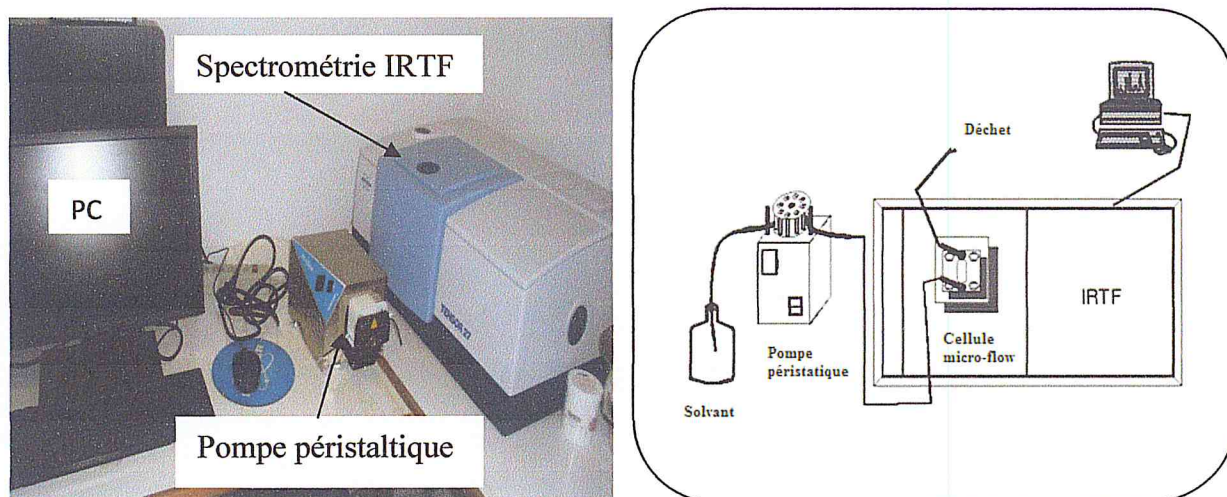


Figure II.1 : Montage IRTF utilisé pour la détermination des étalons

II.2.2 Réactifs

Tous les réactifs utilisés dans cette étude ; le dichlorométhane stabilisé avec l'amylène, l'éther, sont de grade analytique.

II.3 Spectres IRTF des étalons

Dans cette étude une solution mère de concentration de 20 mg.ml^{-1} a été préparée pour chaque étalon : eugénol, trans anéthol, vanilline.

Des solutions de chaque étalon sont analysées via une cellule contenant des fenêtres de BaF_2 avec une entretoise de 0.1 mm , résolution nominale 4 cm^{-1} , nombre de balayage 10 scans.

II.3.1 Spectre IRTF de l'eugénol préparé directement dans CH_2Cl_2

Une solution d'eugénol dans CH_2Cl_2 de concentration 4 mg.ml^{-1} a été préparée à partir de la solution mère (20 mg.ml^{-1}).

La Figure II.2 montre le spectre d'absorbance de l'eugénole dans le domaine spectral compris entre 4000 et 850 cm^{-1} .

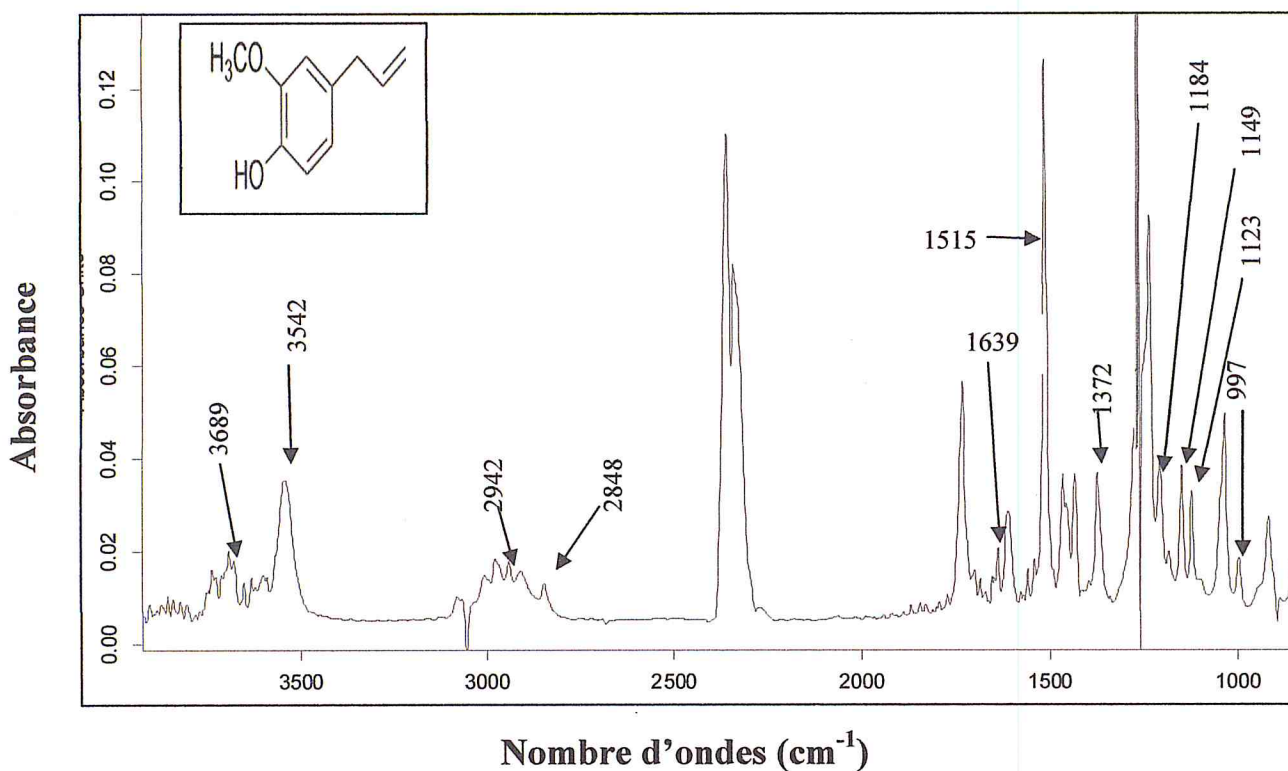


Figure II.2 : Spectre IRTF de l'eugénole préparé directement dans CH_2Cl_2 (4 mg.ml^{-1})

On constate que le spectre de l'eugénole présente des bandes à 3542 cm^{-1} et 3689 cm^{-1} représentant l'élongation de la liaison OH d'un alcool. La région entre 2942 cm^{-1} et 2848 cm^{-1} est caractéristique de l'élongation des groupes CH_2 et CH_3 . Une bande moyenne à 1639 cm^{-1} correspond à l'élongation du groupement $\text{C}=\text{C}$ d'un alcène. Il présente également une bande intense à 1515 cm^{-1} caractéristique de l'élongation du groupement $\text{C}=\text{C}$ aromatique. Les bandes à 1372 cm^{-1} et 1184 cm^{-1} sont relatives à l'élongation de la liaison OH d'un alcool. Les deux bandes à 1149 cm^{-1} et 1123 cm^{-1} sont caractéristiques de l'élongation de la liaison $\text{C}-\text{O}$ et de la déformation de la liaison $\text{O}-\text{H}$ d'un phénol, respectivement. Il présente une bande à 997 cm^{-1} correspond à la déformation de la liaison CH hors-plan.

II.3.2 Spectre IRTF de trans anéthol préparé directement dans CH_2Cl_2

Une solution de trans anéthol dans CH_2Cl_2 de concentration 4 mg.ml^{-1} a été préparée à partir de la solution mère (20 mg.ml^{-1}).

La Figure II.3 montre le spectre d'absorbance de trans anéthol dans le domaine spectral compris entre 4000 et 850 cm^{-1} .

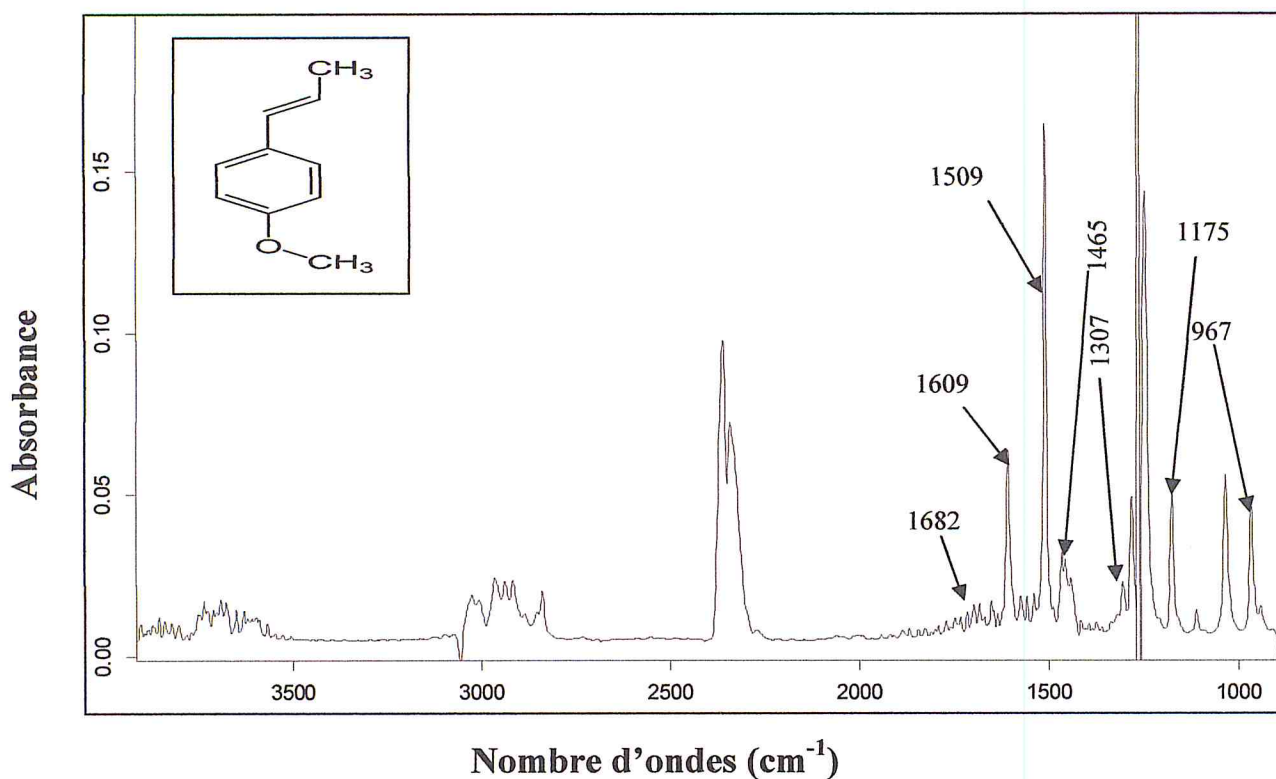


Figure II.3 : Spectre IRTF de trans anéthol préparé directement dans CH_2Cl_2 (4 mg.ml^{-1})

Le spectre de trans anéthol montre une faible bande à 1682 cm^{-1} qui représente l'élongation du groupement C=C d'un alcène. Il présente deux bandes intenses à 1609 cm^{-1} et 1509 cm^{-1} caractéristique de l'élongation du groupement C=C aromatique. Les bandes moyennes à 1465 cm^{-1} et 1307 cm^{-1} correspondent à l'élongation du groupement CH et à la déformation du groupement CH_3 , et une forte bande à 1175 cm^{-1} représente l'élongation du groupement C-O. Il présente une forte bande à 967 cm^{-1} caractéristique de la déformation de la liaison CH hors-plan.

II.3.3 Spectre IRTF de la vanilline préparée directement dans CH_2Cl_2

Une solution de vanilline dans CH_2Cl_2 de concentration 4 mg.ml^{-1} a été préparée à partir de la solution mère (20 mg.ml^{-1}).

La Figure II.4 montre le spectre d'absorbance de la vanilline dans le domaine spectral compris entre 4000 et 850 cm^{-1} .

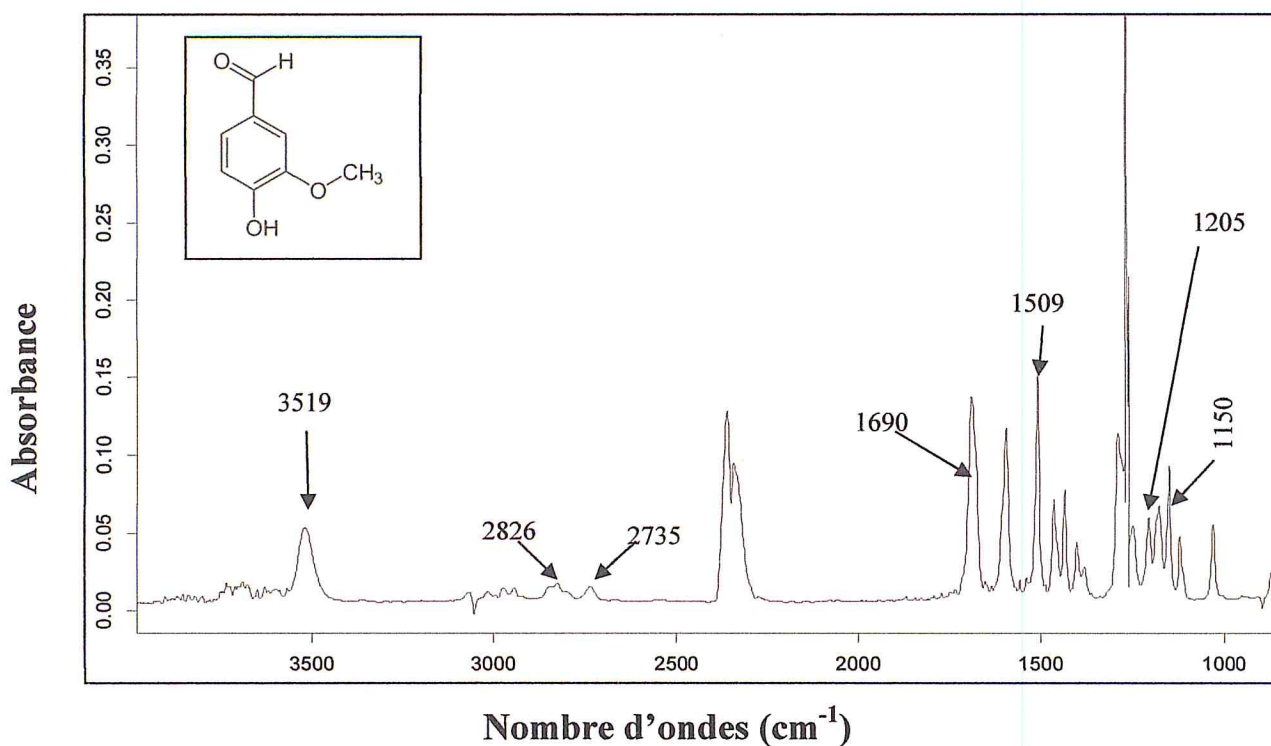


Figure II.4 : Spectre IRTF de la vanilline préparée directement dans CH_2Cl_2 (4 mg.ml^{-1})

Comme on peut le constater, le spectre de la vanilline montre une forte bande à 3519 cm^{-1} qui représente l'élongation de la liaison OH d'un alcool. La région entre 2826 cm^{-1} et 2735 cm^{-1} est caractéristique de l'élongation du groupement CH. Il présente également une bande intense à 1690 cm^{-1} qui correspond à l'élongation du groupement C=O, et une bande intense à 1509 cm^{-1} relatif à l'élongation du groupement C=C aromatique. Les deux bandes à 1205 et 1150 cm^{-1} sont caractéristiques de l'élongation de la liaison C-O et de la déformation de la liaison OH du phénol.

II.4 Choix des conditions de travail

Avant d'effectuer la détermination quantitative nous allons commencer tout d'abord par l'optimisation et le choix des conditions spectrales et opératoires à savoir : Les bandes d'absorbances, les modes d'intégration, la nature des fenêtres, le chemin optique, la résolution et le nombre de balayage.

II.4.1 Choix des bandes de travail pour les différents étalons

Les bandes spécifiques (séparées) de chaque composante à savoir l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline, aussi qu'une bande commune de ces trois composantes ont été sélectionnées.

La figure II.5 présente les bandes séparées et commune pour effectuer le travail.

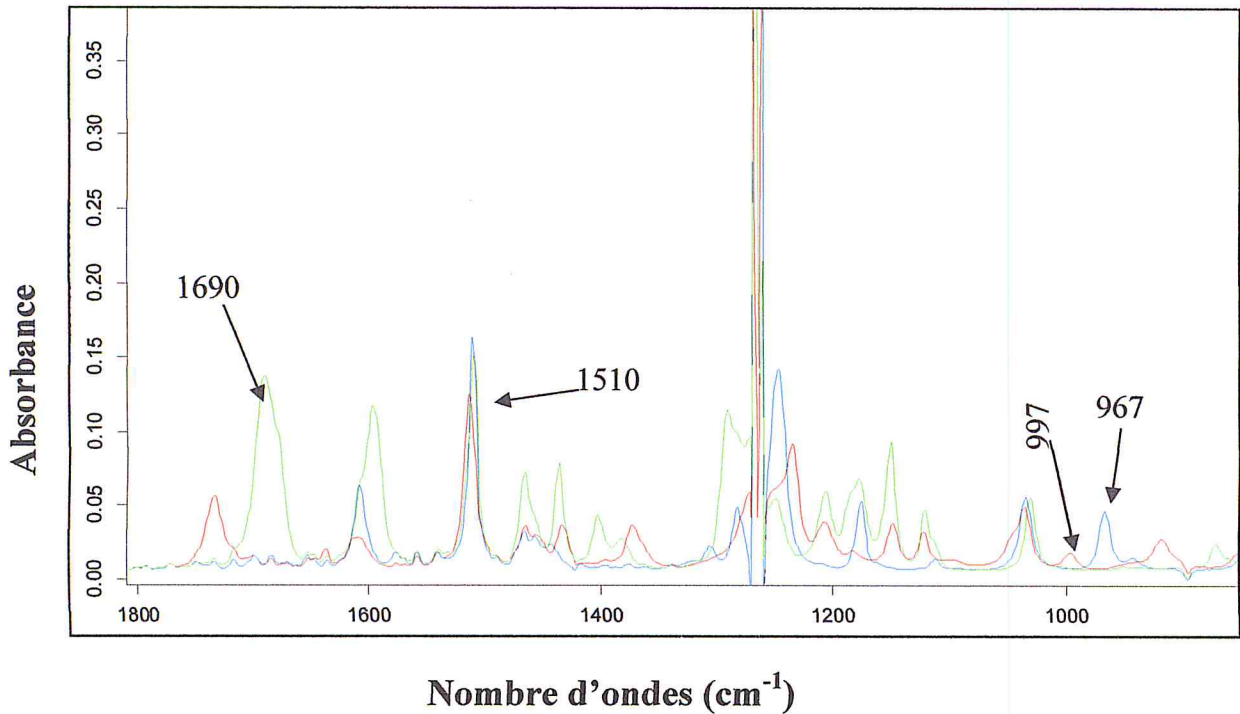



Figure II.5 : Spectres IRTF des trois étalons : (rouge) eugénol, (bleu) trans anéthol, (vert) vanilline (4 mg.ml⁻¹)

D'après le spectre de la figure II.5, on constate qu'il existe une bande à 1510 cm⁻¹ commune aux trois étalons utilisés. Elle est caractéristique comme indiqué auparavant à l'élongation du groupement C=C aromatique (la fonction qui existe dans les trois étalons). Cette bande sera exploitée pour la détermination de la fraction phénolique (tous les phénols existant dans les échantillons réels).

Le tableau II.1 regroupe les bandes séparées et commune (hauteur des pics) pour l'eugénol, le trans anéthol, la vanilline et la fraction phénolique.

Tableau II.1 : Sélection des bandes séparées et commune

Etalons	Eugénol	Trans anéthol	Vanilline	Fraction phénolique
Lignes de base (cm⁻¹)	Hauteur des pics			
1007-984	Max 997			
977-955		Max 967		
1721-1659			Max 1690	
1541-1484				Max 1510

 Bandes sélectionnées pour le développement du modèle.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau II.1 on constate que :

- Les bandes à 997 cm^{-1} , 967 cm^{-1} et à 1690 cm^{-1} sont des bandes séparées pour l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline, respectivement.
- La bande à 1510 cm^{-1} est une bande commune des trois étalons.

Il est à montrer que les bandes sélectionnées se sont les bandes utilisées pour développer la calibration multicomposé.

II.4.2 Sélection des modes d'intégration

Le logiciel Quant 1 d'OPUS permet de sélectionner une gamme d'intégration pour les pics du spectre IR. La hauteur ou l'aire de pic (intégrale) peuvent être utilisés pour la calibration. Il existe 19 modes d'intégration (figure II.6, annexe). Six modes ont été testés pour le calcul des intensités des pics. Les modes R et K ont été choisis pour effectuer la calibration.

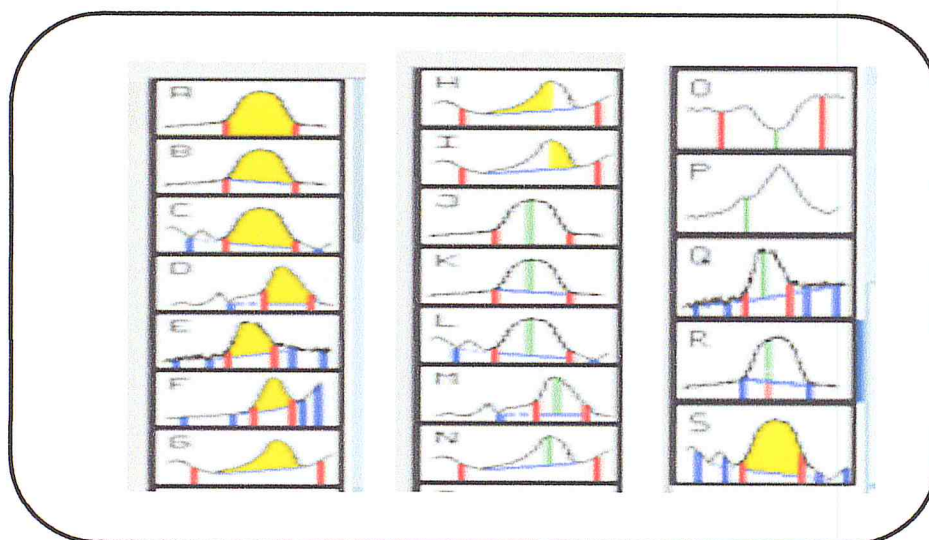


Figure II.6 : Modes d'intégration

II.4.3 Choix du chemin optique des fenêtres

II.4.3.1 Chemin optique avec des fenêtres de BaF₂

Nous avons utilisé des fenêtres de BaF₂ avec un chemin optique de 0.1 mm, une résolution nominale de 4 cm^{-1} et un nombre de balayage égal à 10 scans.

Le tableau II.2 regroupe les valeurs des intensités des bandes sélectionnées pour les trois étalons dilués dans CH₂Cl₂ (4 mg.ml^{-1}).

Tableau II.2 : Analyse des étalons en utilisant les fenêtres de BaF₂ avec une entretoise de 0.1 mm

Etalons	Mode d'intégration	Intensités
Eugénol Max : 997 cm⁻¹ L.B : (1007-984 cm⁻¹)	J	0.018796
	K	0.008137
	L	0.009101
	M	0.007678
	N	0.008137
	R	0.008082
Trans anéthol Max : 967 cm⁻¹ L.B : (977-955 cm⁻¹)	J	0.047042
	K	0.032195
	L	0.035482
	M	0.036938
	N	0.032195
	R	0.032195
Vanilline Max : 1690 cm⁻¹ L.B : (1721-1659 cm⁻¹)	J	0.137860
	K	0.123703
	L	0.123573
	M	0.125828
	N	0.123703
	R	0.123283

L.B : Ligne de Base

D'après les résultats indiqués dans le tableau II.2, on remarque qu'avec les fenêtres de BaF₂ on a obtenu des faibles intensités pour les bandes choisies de l'eugénol et le trans anéthol.

Pour palier à cette défaillance on a pensé changer les fenêtres de la cellule de flux ainsi que le chemin optique.

II.4.3.2 Chemin optique avec des fenêtres de NaCl

Nous avons utilisé une fenêtre de NaCl avec un chemin optique de 1 mm et une résolution nominale de 4 cm⁻¹ et un nombre de balayage égal à 20 scans.

La figure II.7 représente les spectres des trois étalons dilués dans CH_2Cl_2 ($5\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) en utilisant des fenêtres de NaCl.

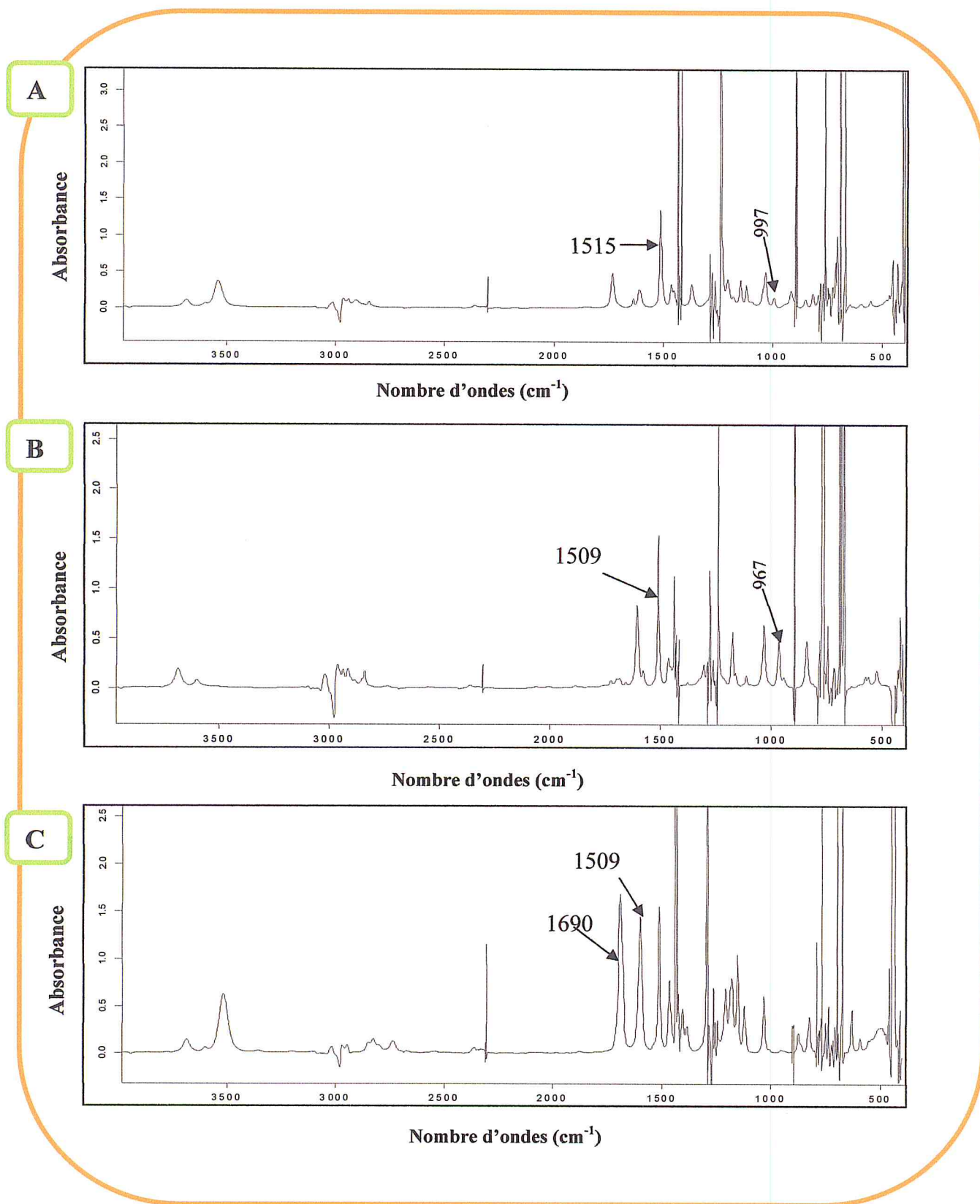


Figure II.7 : Spectres IRTF des trois étalons : (A) eugénol, (B) trans anéthol, (C) vanilline ($5\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$)

Conditions expérimentales : Fenêtre de NaCl, Chemin optique 1 mm, Résolution nominale 4 cm^{-1} , Nombre de balayage 20 scans. Background de la cellule remplie de CH_2Cl_2 .

D'après la figure II.7, on remarque que l'intensité des pics a augmenté avec un facteur de 10, et on a gagné un domaine spectral compris entre 900-650 cm^{-1} .

Donc on va utiliser le long de cette étude une cellule contenant des fenêtres de NaCl et un chemin optique de 1 mm.

II.4.4 Sélection de la résolution

Le tableau II.3 regroupe les valeurs d'intensités des pics des trois étalons dilués dans CH_2Cl_2 (5 mg.ml^{-1}) en utilisant les fenêtres de NaCl pour des valeurs de résolution de 4 et 2 cm^{-1} .

Tableau II.3 : Analyse des étalons en utilisant des fenêtres de NaCl avec une entretoise de 1 mm

Etalons	Mode d'intégration	Intensité avec résolution 4 cm^{-1}	Intensité avec résolution 2 cm^{-1}
Eugénol Max : 997 cm^{-1} L.B : (1007-984 cm^{-1})	J	0.157985	0.169593
	K	0.098062	0.109830
	L	0.108983	0.120323
	M	0.091253	0.103535
	N	0.098062	0.109830
	R	0.097386	0.108084
Trans anéthol Max : 967 cm^{-1} L.B : (977-955 cm^{-1})	J	0.482520	0.532252
	K	0.370713	0.426793
	L	0.408846	0.462808
	M	0.424651	0.478349
	N	0.370713	0.426793
	R	0.370715	0.426796
Vanilline Max : 1690 cm^{-1} L.B : (1721-1659 cm^{-1})	J	1.686577	1.727211
	K	1.595309	1.635810
	L	1.621355	1.660114
	M	1.636854	1.677307
	N	1.595309	1.635810
	R	1.582798	1.632587

L.B : Ligne de Base

D'après les résultats mentionnés dans le tableau II.3, on a remarqué qu'il y a une augmentation de l'intensité des pics et ce, à cause de l'utilisation d'un chemin optique de 1 mm d'épaisseur.

De même on a constaté que la variation de la résolution 2 et 4 cm^{-1} n'influence pas l'intensité des bandes choisies. Alors on a opté pour la valeur de la résolution 4 cm^{-1} afin d'effectuer cette étude.

Pour effectuer cette étude, nous avons choisi des bandes caractéristiques de l'eugénol à 997 cm^{-1} , le trans anéthol à 967 cm^{-1} , la vanilline à 1690 cm^{-1} et la fraction phénolique à 1510 cm^{-1} . Les fenêtres utilisées sont à base de NaCl avec une entretoise de 1 mm. Une résolution de 4 cm^{-1} a été fixée avec un nombre de balayage de 20 scans.

II.5 Calibration multivariable et multicomposé

Dans cette étude nous allons utiliser le logiciel Quant 1 d'OPUS (figure II.8) pour développer un modèle de calibration multivariable et multicomposé (PLS).

Ce modèle sera utilisé pour la détermination simultanée de l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline. La bande commune de ces trois étalons sera exploitée.

Nous allons optimiser le domaine de calibration et le mode d'intégration.

Une fois les calibrages réalisés, les concentrations des composantes chimiques seront déterminées dans les échantillons réels.

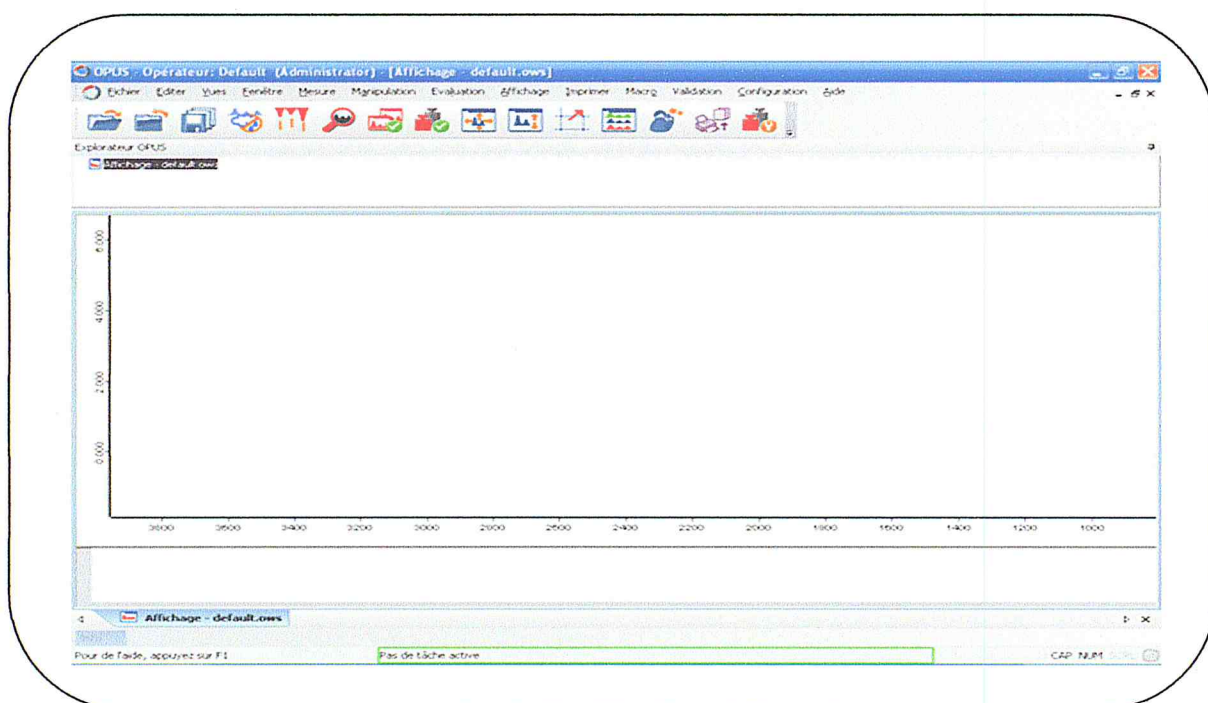


Figure II.8 : Fenêtre de logiciel Quant 1 d'OPUS

II.5.1 Optimisation du modèle PLS (Quant 1)

II.5.1.1 Définition de la méthode Quant 1

Pour procéder au calibrage et obtenir les meilleures valeurs de prédiction, nous devons disposer d'un jeu d'échantillons de calibrage. Chacun des échantillons de calibrage doit contenir une concentration différente de la composante qui nous intéresse. Les concentrations doivent être connues. Le calibrage s'effectue à l'aide des concentrations des composantes connues et des spectres des échantillons de calibrage. Pour ce faire, on associe à chacun des spectres une bande (un pic) spécifique qui subit l'intégration selon le mode optimisé.

II.5.1.2 Etape de l'édition de la méthode Quant 1

Les différentes étapes de l'édition ou de la création de méthode Quant 1 sont très faciles et pratiques à exécuter grâce à un assistant OPUS qui nous guide dans chaque étape (figure II.9) une fois les spectres des solutions étalons sont enregistrées.

Cet assistant va vous aider à définir une méthode d'analyse quantitative Quant 1

Les étapes suivantes sont à parcourir :

Sélection des spectres pour le calibrage

- Spécification de la désignation et des unités des composantes
- Entrée des concentrations des composantes
- Choix d'un pic spectral correspondant à chaque composante (mode d'intégration)
- Sélection du type de courbe de calibrage (régressions linéaire, cubique ou carré) pour la courbe de calibrage, nous pouvons choisir entre une droite ou une parabole (carrée ou cubique). En choisissant une parabole comme courbe de calibrage, il est éventuellement possible de prendre en compte les écarts par rapport à la loi de Beer-Lambert.
- Calcul de calibrage
- Affichage et impression des résultats de calibrage (tableau et diagrammes)

Cliquer sur «Suite» pour définir une nouvelle méthode

Cliquer sur «Sélection de méthode Quant 1» pour éditer une méthode existante.

Sélection de méthode Quant 1

Figure II.9 : Assistant de l'éditeur de la méthode Quant 1

II.6 Choix de la gamme de calibration

II.6.1 Préparation d'une matrice réduite de la calibration

Comme la teneur des métabolites secondaires est variable dans les plantes, nous avons choisi un domaine arbitraire qui vérifie la linéarité (loi de Beer-Lambert).

On a considéré le domaine de concentration linéaire pour l'eugénol et la vanilline compris entre 0.2 et 5 mg.ml⁻¹, et pour le trans anéthol entre 0.6 à 5 mg.ml⁻¹.

Dans cette étude dix solutions ont été préparées à partir des trois solutions mères de 10 mg.ml⁻¹ de chaque composé.

La concentration de la fraction phénolique a été déduite chaque fois par la sommation des concentrations des trois étalons.

Les compositions des dix solutions étalons en termes de concentration sont regroupées dans le tableau II.4.

Tableau II.4 : Composition des solutions étalons (matrice réduite)

Solution étalon	Eugénol		Trans anéthol		Vanilline		Fraction phénolique	
	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)
Solution 1	0.6	0.3	1.6	0.8	0.2	0.1	2.4	1.2
Solution 2	0.6	0.3	5	2.5	0.2	0.1	5.8	2.9
Solution 3	5	2.5	1.6	0.8	0.2	0.1	6.8	3.4
Solution 4	0.6	0.3	1.6	0.8	5	2.5	7.2	3.6
Solution 5	4	2	4	2	0.5	0.1	8.2	4.1
Solution 6	0.6	0.3	4	2	4	2	8.6	4.3
Solution 7	4	2	1.6	0.8	4	2	9.6	4.8
Solution 8	3	1.5	3	1.5	3	1.5	9	4.5
Solution 9	0.2	0.1	0.6	0.3	0.2	0.1	1	0.5
Solution 10	4	2	0	0	4	2	8	4

C : concentration de l'étalon dans la solution étalon en mg.ml⁻¹, V : volume prélevé de la solution mère en ml (un volume final de 25 ml est considéré).

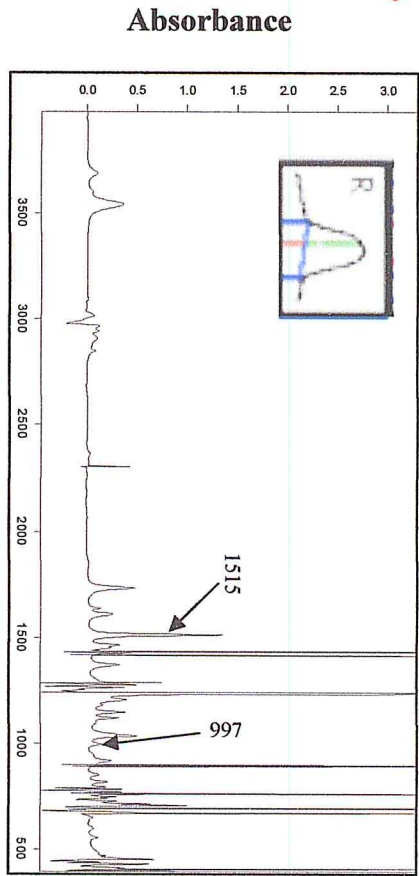
II.6.1.1 Paramètres d'intégration de chaque composante

Pour exécuter correctement Quant 1, il est indispensable de considérer des bandes séparées de chaque composante et la bande commune de ces trois composantes, pour se faire on a considéré les bandes sélectionnées dans le tableau II.1.

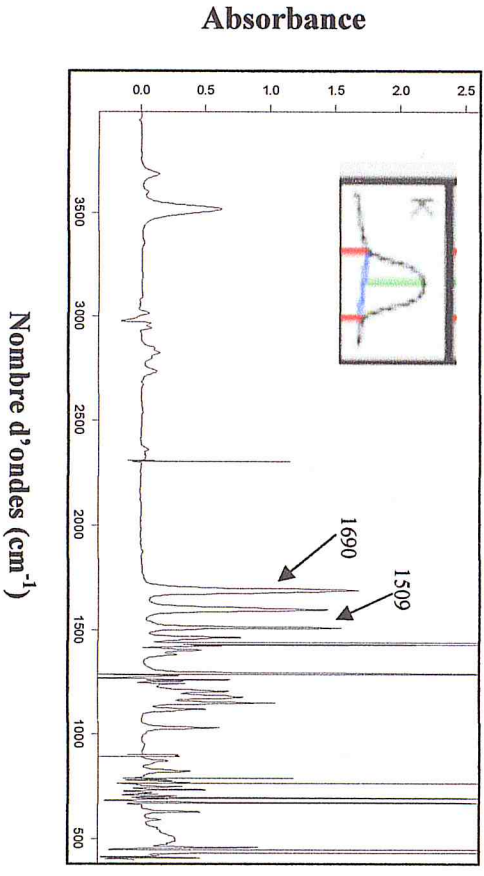
Différents modèles PLS ont été construits en considérant les bandes séparées de chaque composante et la bande commune avec les différents modes d'intégrations.

Les spectres IRTF de la figure II.10 illustre le mode d'intégration choisi pour chaque composante pour construire enfin le modèle de calibration.

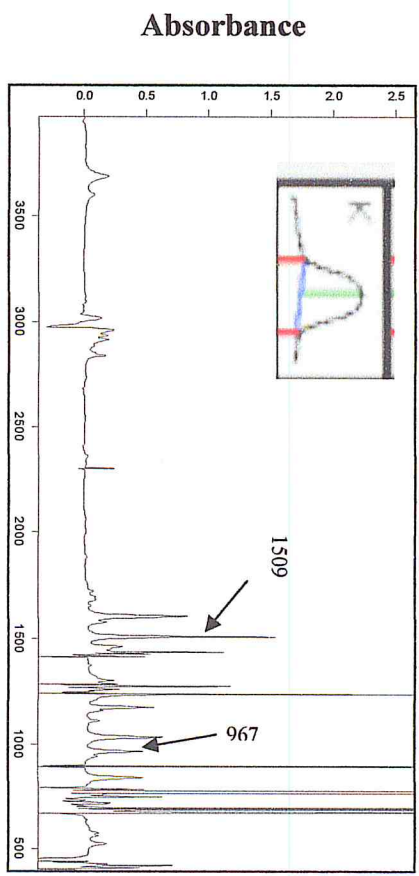
1



3



2



4

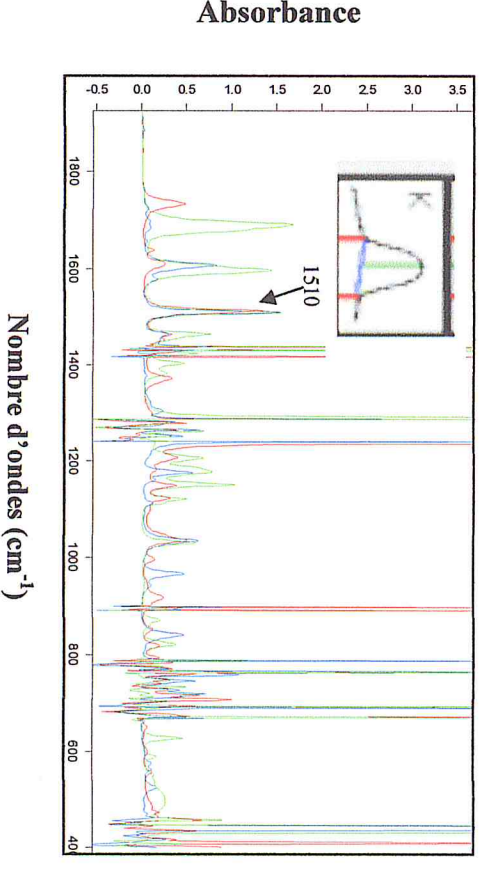


Figure II.10 : Spectres IRTF de (1) eugénol, (2) trans anéthol, (3) vanilline, (4) spectre des trois étalons : (rouge) eugénol, (bleu) trans anéthol, (vert) vanilline (5 mg.ml⁻¹)

On a constaté que le mode R est adéquat pour l'eugénol et que le mode K est adéquat pour le trans anéthol, la vanilline et la fraction phénolique.

II.6.1.2 Paramètres analytiques de l'analyse Quant 1 des trois composantes et de la fraction phénolique

Les tableaux II.5-II.8 résument les résultats de l'analyse Quant 1 pour les trois composantes (eugénol, trans anéthol et vanilline) et la fraction phénolique.

Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie de la solution de calibrage, la valeur réelle, la valeur calculée (la valeur de prédiction) à partir des résultats de calibrage, la différence «absolue» entre ces deux valeurs, la position X, qui constitue la valeur d'intégration du pic, et enfin l'erreur relative.

Tableau II.5 : Résultats de calibrage pour l'eugénoïl

EUGENOL

régression : linéaire

L'intégration : mode R : 997 (1007-984)



Droite d'étalonnage : $Y = +0.11678 + 42.635 X$

Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0.991

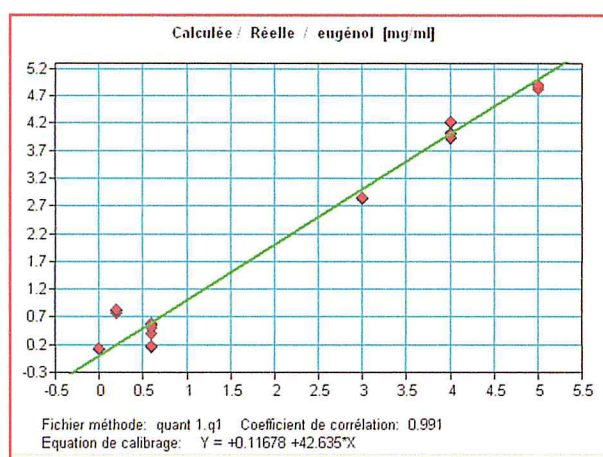
Sigma = 0.255 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

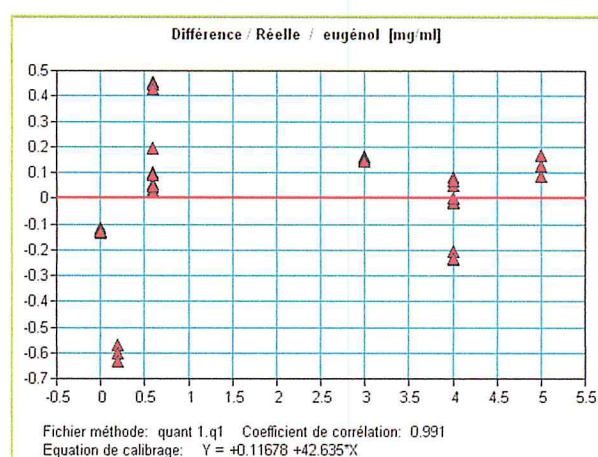
Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	0.6	0.571 ± 0.003	0.028 ± 0.003	0.010 ± 9.030.10 ⁻⁵
Solution 2	0.6	0.157 ± 0.011	0.442 ± 0.011	9.539.10 ⁻⁴ ± 2.718.10 ⁻⁴
Solution 3	5	4.874 ± 0.033	0.125 ± 0.033	0.111 ± 7.760.10 ⁻⁴
Solution 4	0.6	0.482 ± 0.058	0.117 ± 0.058	0.008 ± 0.00136
Solution 5	4	3.933 ± 0.012	0.066 ± 0.012	0.089 ± 2.899.10 ⁻⁴
Solution 6	0.6	0.487 ± 0.061	0.112 ± 0.06	0.008 ± 0.001
Solution 7	4	4.009 ± 0.008	-0.009 ± 0.008	0.091 ± 2.021.10 ⁻⁴
Solution 8	3	2.847 ± 0.007	0.152 ± 0.007	0.064 ± 1.715.10 ⁻⁴
Solution 9	0.2	0.801 ± 0.026	-0.601 ± 0.026	0.016 ± 6.331.10 ⁻⁴
Solution 10	4	4.225 ± 0.013	-0.224 ± 0.013	0.096 ± 3.225.10 ⁻⁴

Les figures II.11-II.14 montrent les représentations graphiques de chaque paramètre analytique calculé pour l'eugénole, le trans anéthol, la vanilline et la fraction phénolique, respectivement. Les diagrammes (A) illustre l'adaptation aux valeurs paramétrées, c.à.d la corrélation entre la valeur calculée et réelle, les diagrammes (B) représentent la différence par rapport aux valeurs paramétrées, c.à.d la dispersion de l'erreur absolue par rapport à la valeur réelle et les diagrammes (C) qui montrent la corrélation entre les valeurs paramétrées (la concentration de la composante) et la réponse analytique (valeur d'intégration des pics). Les trois diagrammes obtenus permettent d'apprécier la qualité de la série de calibration et de déceler d'éventuels dérivés.



A



B



C

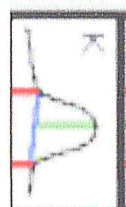
Figure II.11 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour l'eugénole

Tableau II.6 : Résultats de calibrage pour le trans anéthol

TRANS ANETHHOL

régression : linéaire

L'intégration : mode K : 967 (977-955)



Droite d'étalonnage : $Y = -0.21422 + 13.864 X$

Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
X : Valeur d'intégration

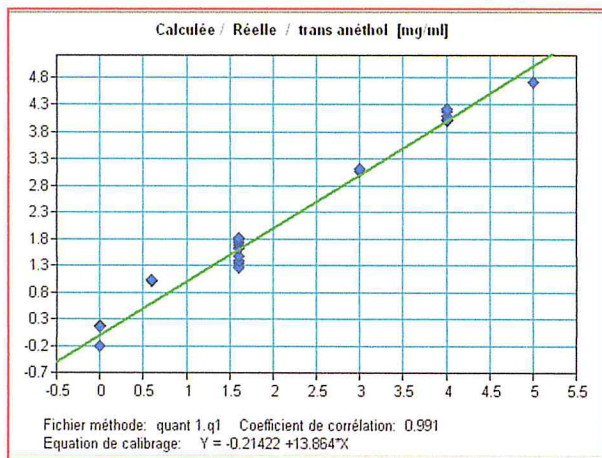
Coefficient de corrélation (r) : 0.991

Sigma = 0.229: est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

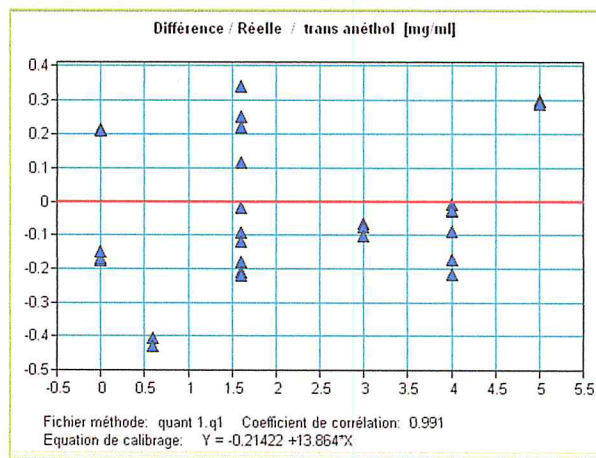
($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

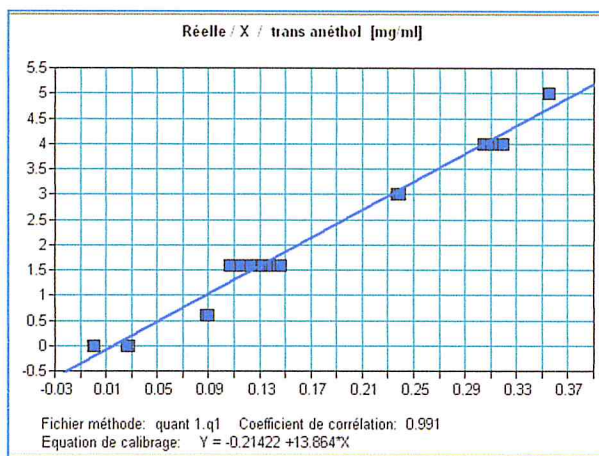
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	1.6	$1.348 \pm 9.428.10^{-4}$	$0.251 \pm 9.285.10^{-4}$	$0.112 \pm 8.164.10^{-5}$
Solution 2	5	4.705 ± 0.003	0.294 ± 0.003	$0.354 \pm 2.494.10^{-4}$
Solution 3	1.6	1.374 ± 0.089	0.225 ± 0.090	0.114 ± 0.006
Solution 4	1.6	1.676 ± 0.042	-0.076 ± 0.041	0.136 ± 0.003
Solution 5	4	4.020 ± 0.009	-0.020 ± 0.009	$0.305 \pm 7.118.10^{-4}$
Solution 6	4	4.159 ± 0.053	-0.159 ± 0.053	0.315 ± 0.003
Solution 7	1.6	1.804 ± 0.018	-0.203 ± 0.018	0.145 ± 0.001
Solution 8	3	3.080 ± 0.015	-0.080 ± 0.015	0.237 ± 0.001
Solution 9	0.6	1.021 ± 0.010	-0.420 ± 0.010	$0.089 \pm 7.643.10^{-4}$
Solution 10	0	0.165 ± 0.010	-0.165 ± 0.010	$0.027 \pm 7.638.10^{-4}$



A



B



C

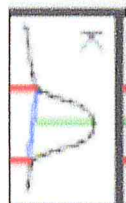
Figure II.12 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour le trans anéthol

Tableau II.7 : Résultats de calibrage pour la vanilline

VANILLINE

régression : linéaire

L'intégration : mode K : 1690 (1721-1659)



Droite d'étalonnage : $Y = -0.020945 + 3.1608 X$

Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
X : Valeur d'intégration

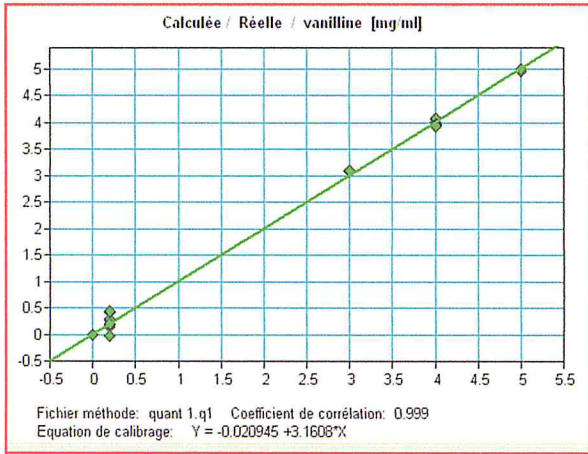
Coefficient de corrélation (r) : 0.999

Sigma = 0.109 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

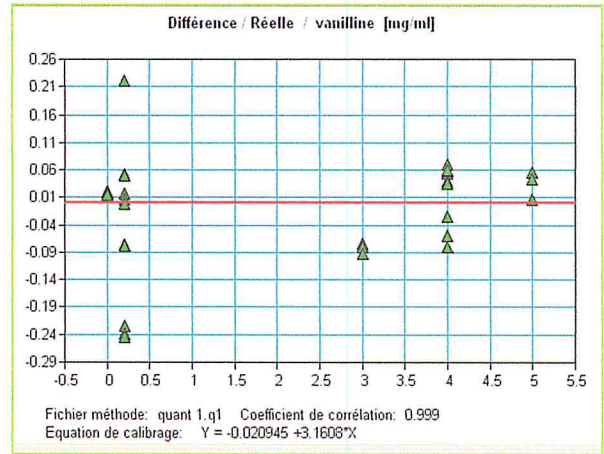
($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne \pm déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

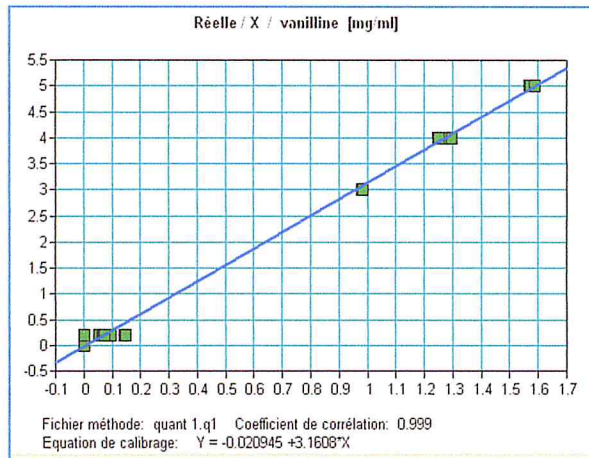
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	0.2	$0.148 \pm 3.681.10^{-4}$	$0.051 \pm 3.960.10^{-4}$	$0.053 \pm 1.265.10^{-4}$
Solution 2	0.2	0.277 ± 0.001	-0.077 ± 0.001	$0.094 \pm 3.652.10^{-4}$
Solution 3	0.2	-0.020 ± 0.000	0.220 ± 0.000	0.000 ± 0.000
Solution 4	5	4.964 ± 0.021	0.035 ± 0.021	1.577 ± 0.006
Solution 5	0.2	0.192 ± 0.007	0.007 ± 0.007	0.067 ± 0.002
Solution 6	4	4.055 ± 0.022	-0.054 ± 0.022	1.289 ± 0.007
Solution 7	4	3.956 ± 0.008	0.043 ± 0.008	1.258 ± 0.002
Solution 8	3	3.081 ± 0.007	-0.081 ± 0.007	0.981 ± 0.002
Solution 9	0.2	0.436 ± 0.008	-0.236 ± 0.008	0.144 ± 0.002
Solution 10	4	3.936 ± 0.005	0.063 ± 0.005	1.252 ± 0.001



A



B



C

Figure II.13 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour la vanilline

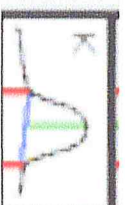
Tableau II.8 : Résultats de calibrage pour la fraction phénolique

FRACTION PHENOLIQUE

régression : linéaire

L'intégration : mode K : 1510 (1541-1484)

Droite d'étalonnage : $Y = -0.31527 + 3.3646 X$



Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
 X : Valeur d'intégration

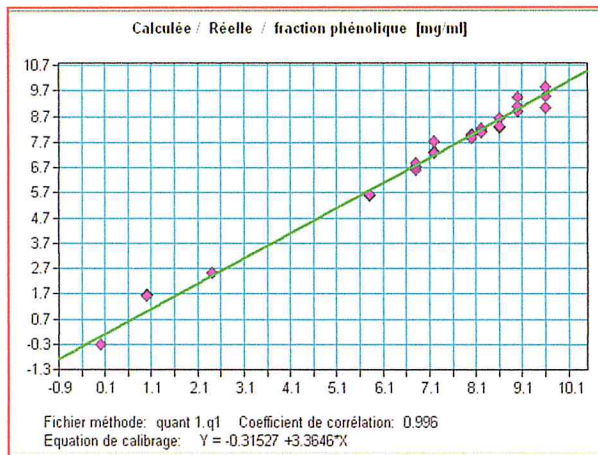
Coefficient de corrélation (r) : 0.996

Sigma = 0.306 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

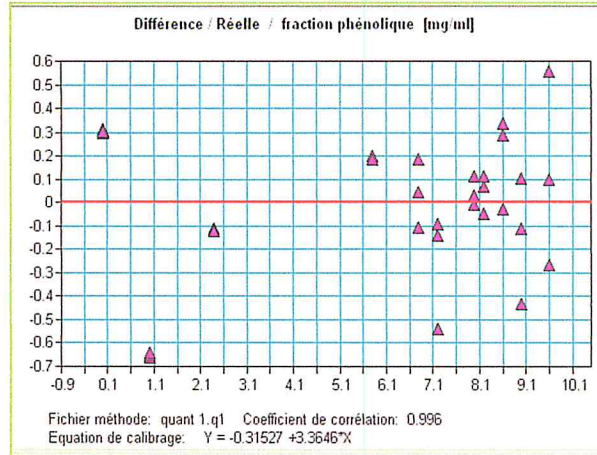
($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

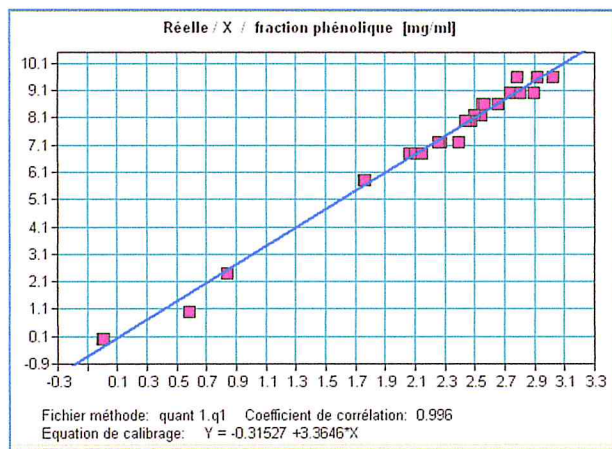
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	2.4	2.514 ± 0.003	-0.114 ± 0.003	0.840 ± 0.001
Solution 2	5.8	5.602 ± 0.005	0.197 ± 0.006	1.758 ± 0.001
Solution 3	6.8	6.757 ± 0.119	0.042 ± 0.118	2.102 ± 0.035
Solution 4	7.2	7.456 ± 0.199	-0.256 ± 0.200	2.309 ± 0.059
Solution 5	8.2	8.154 ± 0.068	0.045 ± 0.068	2.517 ± 0.020
Solution 6	8.6	8.401 ± 0.162	0.199 ± 0.162	2.590 ± 0.048
Solution 7	9.6	9.470 ± 0.335	0.129 ± 0.335	2.908 ± 0.099
Solution 8	9.0	9.146 ± 0.220	-0.146 ± 0.220	2.812 ± 0.065
Solution 9	1.0	1.651 ± 0.007	-0.650 ± 0.007	0.584 ± 0.0021
Solution 10	8.0	7.985 ± 0.087	0.044 ± 0.050	2.458 ± 0.014



A



B



C

Figure II.14 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour la fraction phénolique

On constate que, dans ce domaine de concentration on a une bonne qualité de calibrage, car le modèle donne un bon coefficient de corrélation (r), et une erreur d'analyse faible (0.3), cette dernière est appréciée au regard du facteur sigma.

Est-il possible d'élargir ce domaine pour effectuer la détermination quantitative?

II.6.2 Elargissement de la matrice de calibration

Etant donné que les composés phénoliques chez les plantes choisies dans cette étude se trouvent dans des proportions diverses qui peuvent être faibles, nous avons été amenés à élargir le domaine de calibration vers les faibles concentrations.

Dix autres solutions ont été préparées à partir des trois solutions mères de 2.5 mg.ml^{-1} de chaque composé.

Donc les domaines de concentration linéaires pour l'eugénol compris entre 0.2 et 5 mg.ml^{-1} , le trans anéthol entre 0.1 et 5 mg.ml^{-1} et pour la vanilline entre 0.05 et 5 mg.ml^{-1} a été considéré.

La concentration de la fraction phénolique a été déduite chaque fois par la sommation des concentrations des trois étalons.

Les compositions des vingt solutions étalons en termes de concentration sont regroupées dans le tableau II.9.

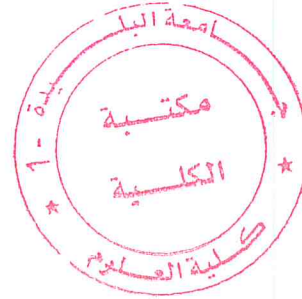


Tableau II.9 : Composition des solutions étalon (élargissement de la matrice)

Solution étalon	Eugénol		Trans anéthol		Vanilline		Fraction phénolique	
	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)	C (mg.ml ⁻¹)	V (ml)
Solution 1	0.6	0.3	1.6	0.8	0.2	0.1	2.4	1.2
Solution 2	0.6	0.3	5	2.5	0.2	0.1	5.8	2.9
Solution 3	5	2.5	1.6	0.8	0.2	0.1	6.8	3.4
Solution 4	0.6	0.3	1.6	0.8	5	2.5	7.2	3.6
Solution 5	4	2	4	2	0.2	0.1	8.2	4.1
Solution 6	0.6	0.3	4	2	4	2	8.6	4.3
Solution 7	4	2	1.6	0.8	4	2	9.6	4.8
Solution 8	3	1.5	3	1.5	3	1.5	9	4.5
Solution 9	0.2	0.1	0.6	0.3	0.2	0.1	1	0.5
Solution 10	4	2	0	0	4	2	8	4

Solution 11	0.5	1	0.1	0.2	0.05	0.1	0.65	1.3
Solution 12	0.6	1.2	0.2	0.4	1	2	1.8	3.6
Solution 13	1.8	3.6	0.15	0.3	0.08	0.16	2.03	4.06
Solution 14	0.5	1	1	2	0.05	0.1	1.55	3.1
Solution 15	0.8	1.6	0.2	0.4	0.8	1.6	1.8	3.6
Solution 16	1.05	2.1	0.8	1.6	0.05	0.1	1.9	3.8
Solution 17	0.6	1.2	0.8	1.6	0.8	1.6	2.2	4.4
Solution 18	0.7	1.4	0.7	1.4	0.7	1.4	2.1	4.2
Solution 19	1.05	2	0	0	1.4	2.8	2.45	4.9
Solution 20	1.2	2.4	0.7	1.4	0	0	1.9	3.8

C : Concentration de l'étalon dans la solution étalon en mg.ml^{-1} , V : Volume prélevé de la solution mère en ml, (des volumes de la solution mère de 25 et 10 ml sont considérés).

II.6.2.1 Paramètres d'intégration de chaque composante

On a constaté que le mode R est adéquat pour l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline et que le mode K est adéquat pour la fraction phénolique.

II.6.2.2 Paramètres analytiques de l'analyse Quant 1 des trois composantes et la fraction phénolique

Les tableaux II.10-II.13 résument les résultats de l'analyse Quant 1 pour les trois composantes (eugénol, trans anéthol, vanilline) et la fraction phénolique.

Chaque tableau contient toutes les données relatives à la composante choisie de la solution de calibrage, la valeur réelle, la valeur calculée (la valeur de prédiction) à partir des résultats de calibrage, la différence «absolue» entre ces deux valeurs, la position X, qui constitue la valeur d'intégration du pic, et enfin l'erreur relative.

Tableau II.10 : Résultats de calibrage pour l'eugénol

EUGENOL

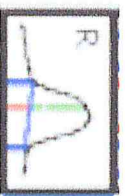
régression : linéaire

L'intégration : mode R : 997 (1007-984)

Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹

Droite d'étalementage : Y = +0.11813 + 42.684 X

X : Valeur d'intégration



Coefficient de corrélation (r) : 0.992

Sigma = 0.184 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

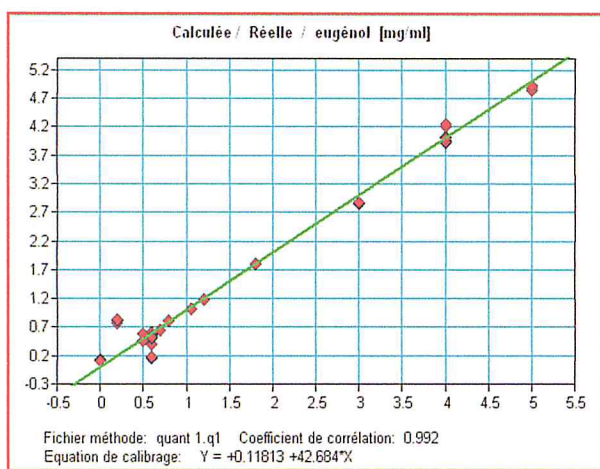
(x±σ) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

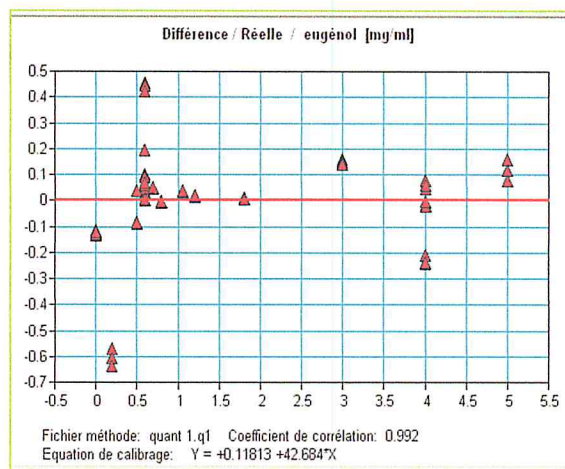
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée (x±σ)	Différence (x±σ)	Valeur d'intégration (x±σ)
Solution 1	0.6	0.572 ± 0.003	0.027 ± 0.003	0.010 ± 9.030.10 ⁻⁵
Solution 2	0.6	0.158 ± 0.011	0.441 ± 0.011	9.539.10 ⁻⁴ ± 2.718.10 ⁻⁴
Solution 3	5	4.881 ± 0.033	0.118 ± 0.033	0.111 ± 7.760.10 ⁻⁴
Solution 4	0.6	0.484 ± 0.058	0.115 ± 0.058	0.008 ± 0.0013
Solution 5	4	3.938 ± 0.012	0.061 ± 0.012	0.089 ± 2.899.10 ⁻⁴
Solution 6	0.6	0.489 ± 0.062	0.110 ± 0.062	0.008 ± 0.0014
Solution 7	4	4.015 ± 0.008	-0.015 ± 0.008	0.091 ± 2.021.10 ⁻⁴

Solution 8	3	2.852 ± 0.007	0.147 ± 0.007	0.064 ± 1.715.10 ⁻⁴
Solution 9	0.2	0.803 ± 0.026	-0.603 ± 0.026	0.016 ± 6.331.10 ⁻⁴
Solution 10	4	4.231 ± 0.013	-0.230 ± 0.013	0.096 ± 3.225.10 ⁻⁴
Solution 11	0.5	0.586 ± 5.185.10 ⁻⁴	-0.086 ± 5.238.10 ⁻⁴	0.010 ± 1.414.10 ⁻⁵
Solution 12	0.6	0.598 ± 0.001	0.001 ± 0.001	0.011 ± 2.624.10 ⁻⁵
Solution 13	1.8	1.793 ± 0.002	0.006 ± 0.001	0.039 ± 4.109.10 ⁻⁵
Solution 14	0.5	0.463 ± 4.496.10 ⁻⁴	0.036 ± 4.422.10 ⁻⁴	0.008 ± 1.040.10 ⁻⁵
Solution 15	0.8	0.804 ± 0.001	-0.004 ± 0.001	0.016 ± 4.496.10 ⁻⁵
Solution 16	1.05	1.014 ± 0.001	0.035 ± 0.001	0.020 ± 3.741.10 ⁻⁵
Solution 17	0.6	0.534 ± 0.003	0.065 ± 0.003	0.009 ± 7.802.10 ⁻⁵
Solution 18	0.7	0.651 ± 0.002	0.048 ± 0.002	0.012 ± 6.944.10 ⁻⁵
Solution 19	1.05	1.013 ± 8.164.10 ⁻⁴	0.036 ± 9.297.10 ⁻⁴	0.020 ± 2.494.10 ⁻⁵
Solution 20	1.2	1.183 ± 0.002	0.016 ± 0.002	0.024 ± 5.354.10 ⁻⁵

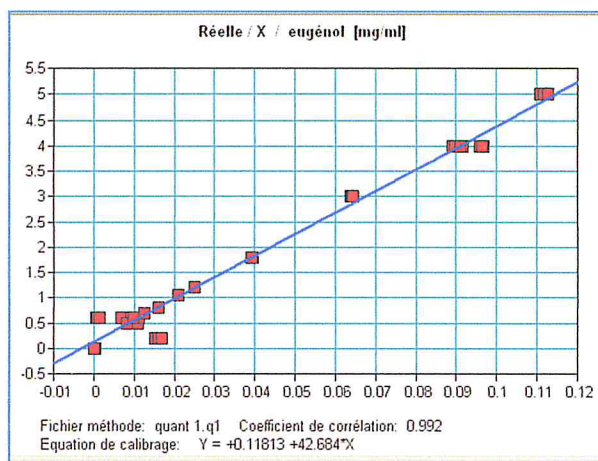
Les figures II.15-II.18 montrent les représentations graphiques de chaque paramètre analytique calculé pour l'eugénole, le trans anéthol, la vanilline et la fraction phénolique, respectivement. Les diagrammes (A) illustre l'adaptation aux valeurs paramétrées, c.à.d la corrélation entre la valeur calculée et réelle, les diagrammes (B) représentent la différence par rapport aux valeurs paramétrées, c.à.d la dispersion de l'erreur absolue par rapport à la valeur réelle et les diagrammes (C) qui montrent la corrélation entre les valeurs paramétrées (la concentration de la composante) et la réponse analytique (valeur d'intégration des pics). Les trois diagrammes obtenus permettent d'apprécier la qualité de la série de calibration et de décaler d'éventuels dérivés.



A



B



C

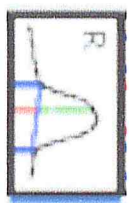
Figure II.15 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour l'eugénole

Tableau II.11 : Résultats de calibrage pour le trans anéthol

TRANS ANETHOL

régression : linéaire

L'intégration : mode R : 967 (977-955)



Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
X : Valeur d'intégration

Droite d'étalonnage : $Y = -0.0032789 + 13.08 X$

Coefficient de corrélation (r) : 0.990

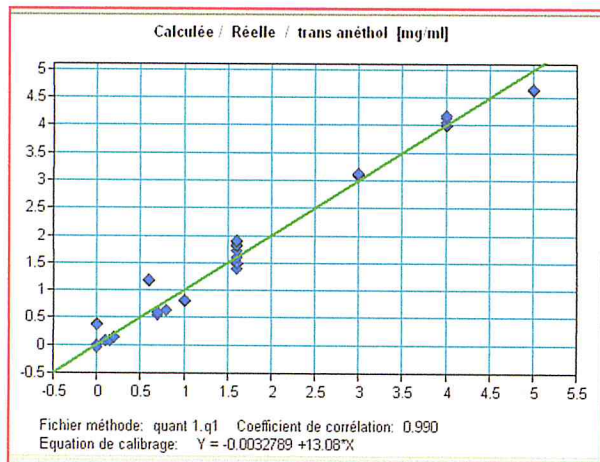
Sigma = 0.208 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne \pm déviation standard pour ($n=3$), trois valeurs dépendantes.

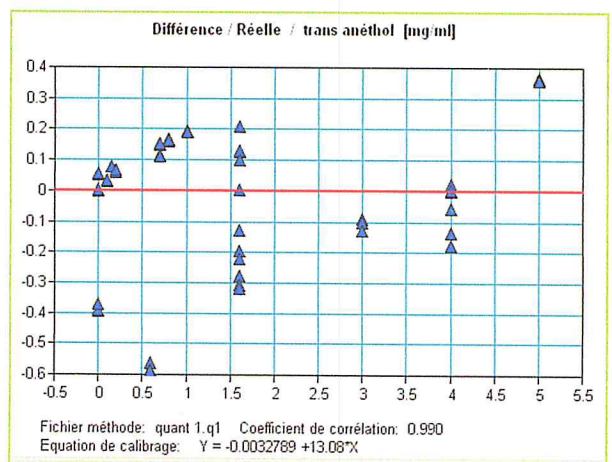
Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	1.6	$1.471 \pm 9.428.10^{-4}$	$0.128 \pm 8.831.10^{-4}$	$0.112 \pm 9.428.10^{-5}$
Solution 2	5	4.638 ± 0.003	0.361 ± 0.003	$0.354 \pm 2.494.10^{-4}$
Solution 3	1.6	1.496 ± 0.084	0.103 ± 0.084	0.114 ± 0.006
Solution 4	1.6	1.781 ± 0.039	-0.181 ± 0.039	0.136 ± 0.003
Solution 5	4	3.993 ± 0.009	0.006 ± 0.009	$0.305 \pm 7.586.10^{-4}$
Solution 6	4	4.123 ± 0.050	-0.123 ± 0.050	0.315 ± 0.003
Solution 8	3	3.106 ± 0.015	-0.106 ± 0.014	0.237 ± 0.001
Solution 9	0.6	1.179 ± 0.011	-0.579 ± 0.010	$0.090 \pm 8.230.10^{-4}$

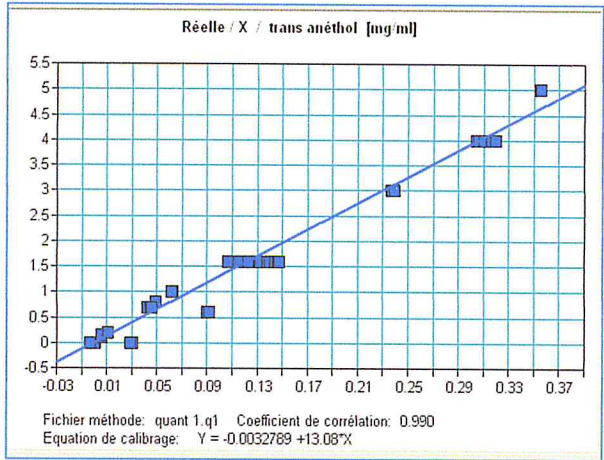
Solution 10	0	0.386 ± 0.009	-0.386 ± 0.009	$0.029 \pm 7.599.10^{-4}$
Solution 11	0.1	$0.068 \pm 4.927.10^{-4}$	$0.031 \pm 4.927.10^{-4}$	$0.005 \pm 3.760.10^{-5}$
Solution 12	0.2	$0.142 \pm 2.357.10^{-4}$	$0.057 \pm 2.569.10^{-4}$	$0.011 \pm 1.885.10^{-5}$
Solution 13	0.15	$0.072 \pm 8.440.10^{-4}$	$0.077 \pm 8.440.10^{-4}$	$0.005 \pm 6.465.10^{-5}$
Solution 14	1	$0.808 \pm 6.976.10^{-4}$	$0.191 \pm 6.976.10^{-4}$	$0.062 \pm 5.312.10^{-5}$
Solution 15	0.2	$0.133 \pm 4.027.10^{-4}$	$0.066 \pm 4.336.10^{-4}$	$0.010 \pm 3.299.10^{-5}$
Solution 16	0.8	$0.634 \pm 8.178.10^{-4}$	$0.165 \pm 8.178.10^{-4}$	$0.048 \pm 6.128.10^{-5}$
Solution 17	0.8	$0.637 \pm 9.092.10^{-4}$	$0.162 \pm 9.092.10^{-4}$	$0.049 \pm 7.039.10^{-5}$
Solution 18	0.7	$0.549 \pm 3.399.10^{-4}$	$0.150 \pm 3.399.10^{-4}$	$0.042 \pm 2.624.10^{-5}$
Solution 19	0	$-0.053 \pm 4.152.10^{-4}$	$0.053 \pm 4.152.10^{-4}$	$-0.003 \pm 3.206.10^{-5}$
Solution 20	0.7	$0.586 \pm 6.0184.10^{-4}$	$0.113 \pm 6.018.10^{-4}$	$0.045 \pm 4.320.10^{-5}$



A



B



C

Figure II.16 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour le trans anéthol

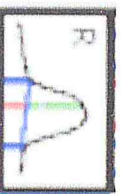
Tableau II.12 : Résultats de calibrage pour la vanilline

VANILLINE

régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1690 (1721-1659)

Droite d'étalonnage : $Y = +0.031698 + 3.1522 X$



Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹
 X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0.997

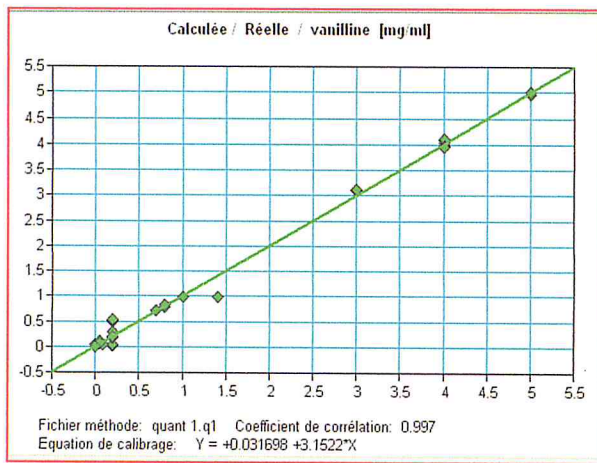
Sigma = 0.125 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

($x \pm \sigma$) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

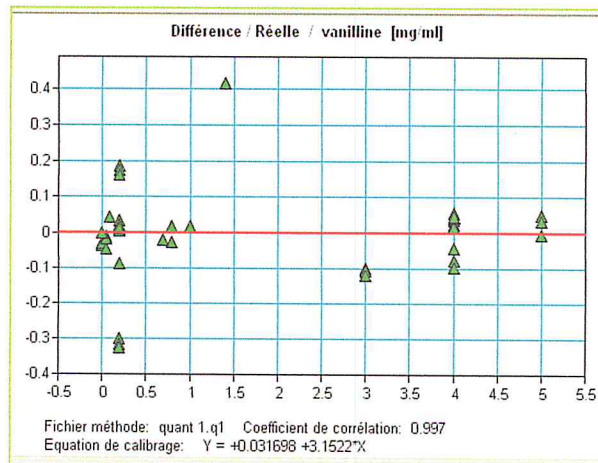
Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \sigma$)	Différence ($x \pm \sigma$)	Valeur d'intégration ($x \pm \sigma$)
Solution 1	0.2	$0.192 \pm 9.092.10^{-4}$	$0.007 \pm 9.314.10^{-4}$	$0.051 \pm 2.976.10^{-4}$
Solution 2	0.2	$0.288 \pm 9.899.10^{-4}$	-0.088 ± 0.001	$0.081 \pm 3.175.10^{-4}$
Solution 3	0.2	0.024 ± 0.010	0.175 ± 0.010	-0.002 ± 0.003
Solution 4	5	4.974 ± 0.023	0.025 ± 0.023	1.568 ± 0.007
Solution 5	0.2	0.178 ± 0.009	0.021 ± 0.009	0.046 ± 0.002
Solution 6	4	4.060 ± 0.040	-0.073 ± 0.022	1.282 ± 0.007
Solution 7	4	3.973 ± 0.008	0.026 ± 0.008	1.250 ± 0.002

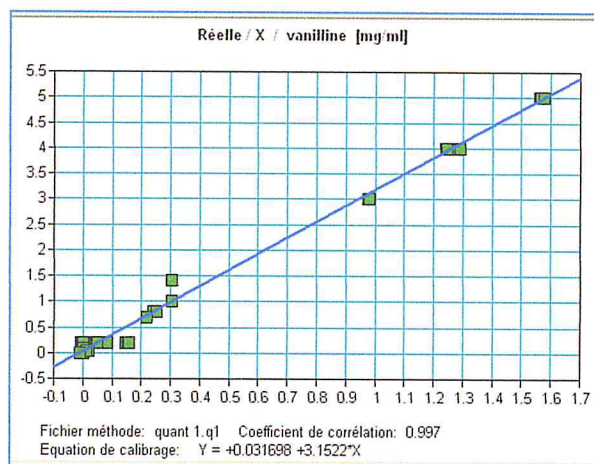
Solution 8	3	3.109 ± 0.007	-0.109 ± 0.007	0.976 ± 0.002
Solution 9	0.2	0.514 ± 0.011	-0.314 ± 0.011	0.153 ± 0.003
Solution 10	4	3.952 ± 0.005	0.048 ± 0.005	1.243 ± 0.001
Solution 11	0.05	$0.059 \pm 2.449.10^{-5}$	$-0.009 \pm 2.616.10^{-5}$	$0.008 \pm 8.178.10^{-6}$
Solution 12	1	$0.983 \pm 1.414.10^{-4}$	$0.016 \pm 1.583.10^{-4}$	$0.301 \pm 4.714.10^{-5}$
Solution 13	0.08	$0.036 \pm 5.792.10^{-5}$	$0.043 \pm 5.792.10^{-5}$	$0.001 \pm 1.892.10^{-5}$
Solution 14	0.05	$0.096 \pm 6.480.10^{-5}$	$-0.046 \pm 6.480.10^{-5}$	$0.020 \pm 2.054.10^{-5}$
Solution 15	0.8	$0.783 \pm 1.247.10^{-4}$	$0.016 \pm 1.219.10^{-4}$	$0.238 \pm 4.714.10^{-5}$
Solution 16	0.05	$0.067 \pm 4.496.10^{-5}$	$-0.017 \pm 4.496.10^{-5}$	$0.011 \pm 1.414.10^{-5}$
Solution 17	0.8	$0.827 \pm 2.160.10^{-4}$	$-0.027 \pm 2.217.10^{-4}$	$0.252 \pm 8.164.10^{-5}$
Solution 18	0.7	$0.721 \pm 8.164.10^{-5}$	$-0.021 \pm 7.133.10^{-5}$	$0.218 \pm 4.714.10^{-5}$
Solution 19	1.4	$0.984 \pm 1.632.10^{-4}$	$0.415 \pm 1.632.10^{-4}$	$0.302 \pm 4.714.10^{-5}$
Solution 20	0	0.000 ± 0.000	$-1.274.10^{-4} \pm 0.000$	$-0.010 \pm 9.428.10^{-6}$



A



B



C

Figure II.17: Représentations graphiques des paramètres analytiques pour la vanilline

Tableau II.13 : Résultats de calibrage pour la fraction phénolique

FRACTION PHENOLIQUE

régression : linéaire

L'intégration : mode K : 1510 (1541-1484)



Y : Valeur pour la composante en mg.ml⁻¹

Droite d'étalonnage : Y = -0.033029 + 3.2568 X

X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0.996

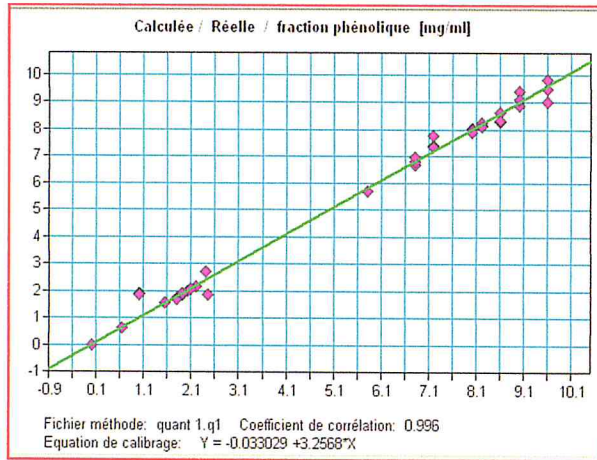
Sigma = 0.273 : est la différence entre la quantité réelle (Valeur Réelle) et la prédiction (Valeur Calculée) ou le domaine de confiance à l'intérieur duquel se situe la valeur, moyennant le degré de probabilité de 1σ (~ 68%).

(x±σ) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

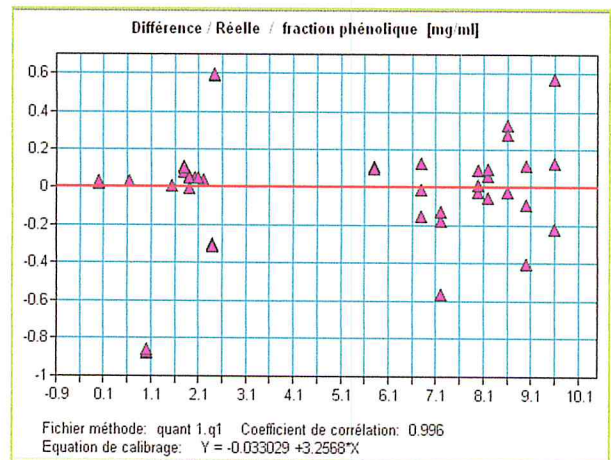
Différence : Valeur réelle – Valeur calculée (valeur de prédiction).

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée (x±σ)	Différence (x±σ)	Valeur d'intégration (x±σ)
Solution 1	2.4	2.705 ± 0.003	-0.305 ± 0.003	0.840 ± 0.001
Solution 2	5.8	5.695 ± 0.005	0.104 ± 0.005	1.758 ± 0.001
Solution 3	6.8	6.813 ± 0.115	-0.013 ± 0.115	2.102 ± 0.035
Solution 4	7.2	7.489 ± 0.193	-0.289 ± 0.193	2.309 ± 0.059
Solution 5	8.2	8.165 ± 0.066	0.034 ± 0.066	2.517 ± 0.202
Solution 6	8.6	8.403 ± 0.157	0.196 ± 0.157	2.590 ± 0.048
Solution 7	9.6	9.439 ± 0.324	0.161 ± 0.324	2.908 ± 0.099

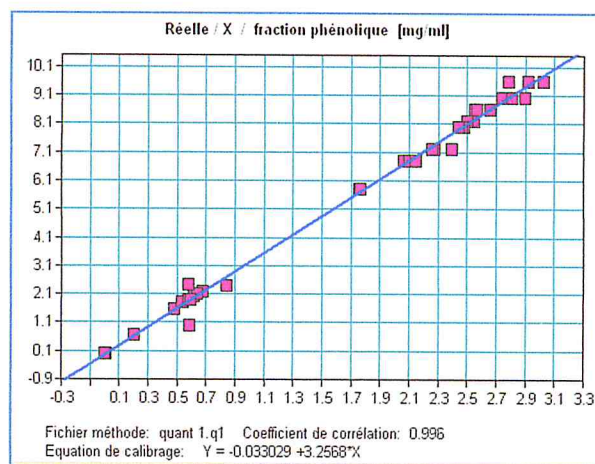
Solution 8	9	9.125 ± 0.213	-0.125 ± 0.213	2.812 ± 0.065
Solution 9	1	1.870 ± 0.007	-0.870 ± 0.007	0.584 ± 0.002
Solution 10	8	7.972 ± 0.048	0.027 ± 0.048	2.458 ± 0.014
Solution 11	0.65	0.618 ± 2.867.10 ⁻⁴	0.031 ± 2.867.10 ⁻⁴	0.200 ± 8.164.10 ⁻⁵
Solution 12	1.8	1.717 ± 0.000	0.082 ± 1.438.10 ⁻⁴	0.537 ± 4.714.10 ⁻⁵
Solution 13	2.03	1.978 ± 4.714.10 ⁻⁴	0.051 ± 5.314.10 ⁻⁴	0.617 ± 1.247.10 ⁻⁴
Solution 14	1.55	1.541 ± 4.714.10 ⁻⁴	0.008 ± 7.254.10 ⁻⁴	0.483 ± 2.160.10 ⁻⁴
Solution 15	1.8	1.692 ± 0.001	0.107 ± 5.906.10 ⁻⁴	0.529 ± 1.414.10 ⁻⁴
Solution 16	1.9	1.847 ± 4.714.10 ⁻⁴	0.053 ± 0.001	0.577 ± 4.027.10 ⁻⁴
Solution 17	2.2	2.163 ± 9.428.10 ⁻⁴	0.036 ± 1.359.10 ⁻⁴	0.674 ± 4.714.10 ⁻⁵
Solution 18	2.1	2.049 ± 0.001	0.050 ± 8.549.10 ⁻⁴	0.639 ± 2.624.10 ⁻⁴
Solution 19	2.45	1.856 ± 0.001	0.593 ± 0.001	0.580 ± 3.559.10 ⁻⁴
Solution 20	1.9	1.907 ± 0.001	-0.007 ± 0.001	0.595 ± 3.559.10 ⁻⁴



A



B



C

Figure II.18 : Représentations graphiques des paramètres analytiques pour la fraction phénolique

Les résultats de ces analyses consécutives démontent que le modèle PLS développé est adéquat pour la détermination simultanée des trois étalons et aussi pour la fraction phénolique dans le cas de l'élargissement du domaine de concentration qui sera considéré pour la détermination des étalons dans les échantillons réels.

Le modèle donne un coefficient de corrélation (r) permettant d'estimer la bonne qualité de calibrage, une erreur d'analyse faible (<0.3), cette dernière est appréciée au regard du facteur sigma.

Les meilleurs paramètres analytiques sont obtenus pour la vanilline.

II.7 Détermination de l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline dans les échantillons réels

Le but de cette étude est la détermination des trois composés (eugénol, trans anéthol, vanilline) dans des échantillons réels par PLS-IRTF sans traitement préalable.

Les échantillons utilisés dans cette partie de travail se sont des huiles essentielles (HE) obtenues à partir d'espèces de plantes soit par l'hydrodistillation ou par l'entraînement à la vapeur d'eau.

Les espèces utilisées sont l'anis étoilé, le clou de girofle, l'armoise, le carvi, le myrte, le romarin, le thym et le zeste d'orange. Ces plantes sont choisies sur la base de leur composition en composés phénoliques.

II.7.1 Préparation des huiles essentielles

Une masse bien précise de chaque plante a été mise en contact avec un volume d'eau ou de vapeur d'eau pendant 2 heures.

Le tableau II.14 présente la masse végétale utilisée et sa méthode d'extraction.

Tableau II.14 : Conditions de préparation des huiles essentielles

Espèce	<i>Anis étoilé</i>	<i>Clous de girofle</i>	<i>Armoise</i>	<i>Carvi</i>	<i>Romarin</i>	<i>Myrte</i>	<i>Thym</i>	<i>Zeste d'orange</i>
Masse végétale (g)	12.9	60	100	100	125	100	125	141.09
Méthode d'extraction	Hydrodistillation							Entrainement à la vapeur d'eau

L'hydrolat a été traité par un volume d'éther pour obtenir l'huile essentielle selon la figure II.19.

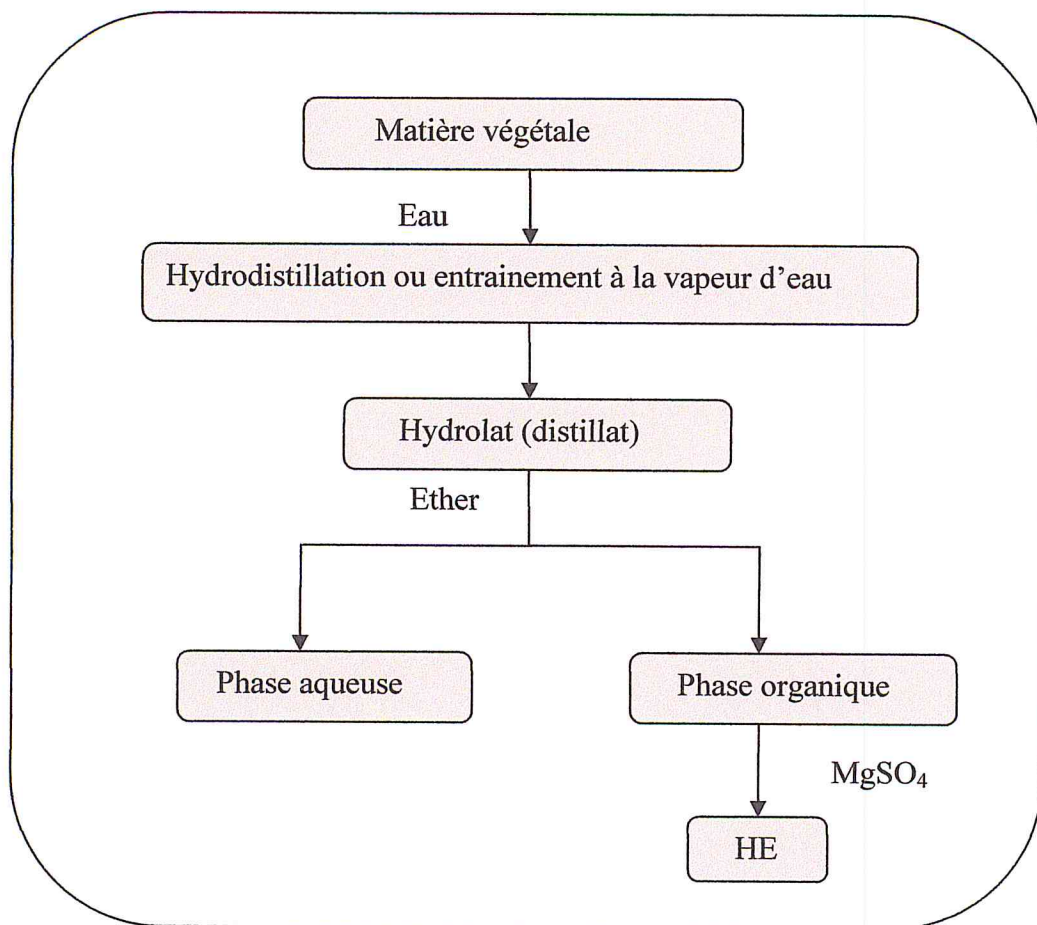


Figure II.19 : Protocole de préparation de l'HE à partir de la matière végétale

II.7.2 Dilution des huiles essentielles directement dans le CH_2Cl_2

Nous allons effectuer la détermination des trois étalons dans les huiles essentielles préparées directement sans traitement préalable dans le CH_2Cl_2 .

Une masse bien précise de chaque huile essentielle a été diluée dans le CH_2Cl_2 .

Les solutions d'huile essentielle ont été préparées en se basant dans la limite du possible sur les données de la littérature et analysées par la combinaison de la PLS-IRTF.

La figure II.20 résume le protocole de préparation des échantillons réels.

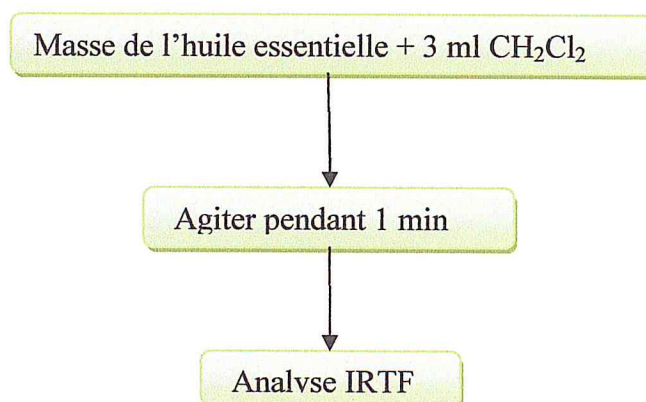


Figure II.20 : Protocole de la dilution directe des huiles essentielles dans CH_2Cl_2

II.7.2.1 Spectres IRTF des huiles essentielles diluées dans CH₂Cl₂

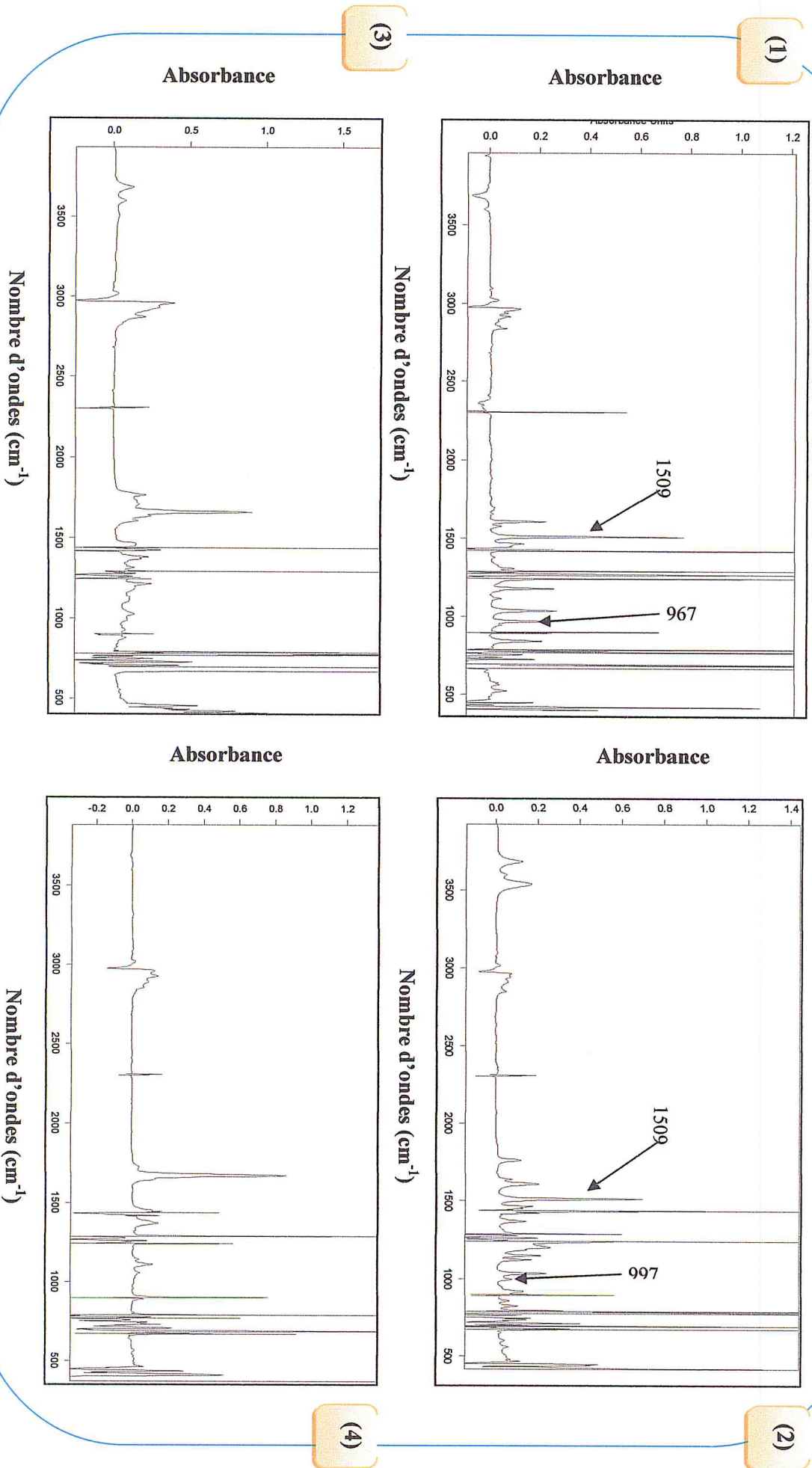


Figure II.21 : Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles diluées dans CH₂Cl₂ (1) anis étoilé (2) clous de girofle (3) armoise (4) carvi

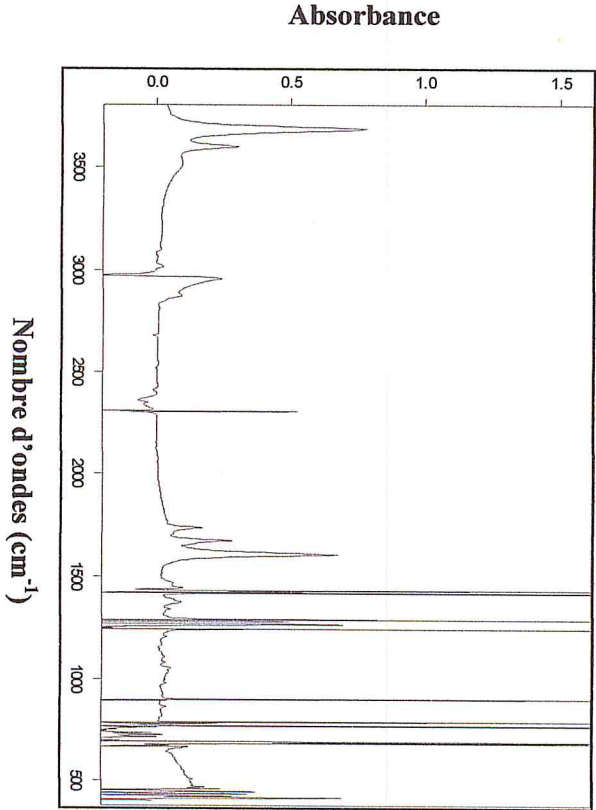
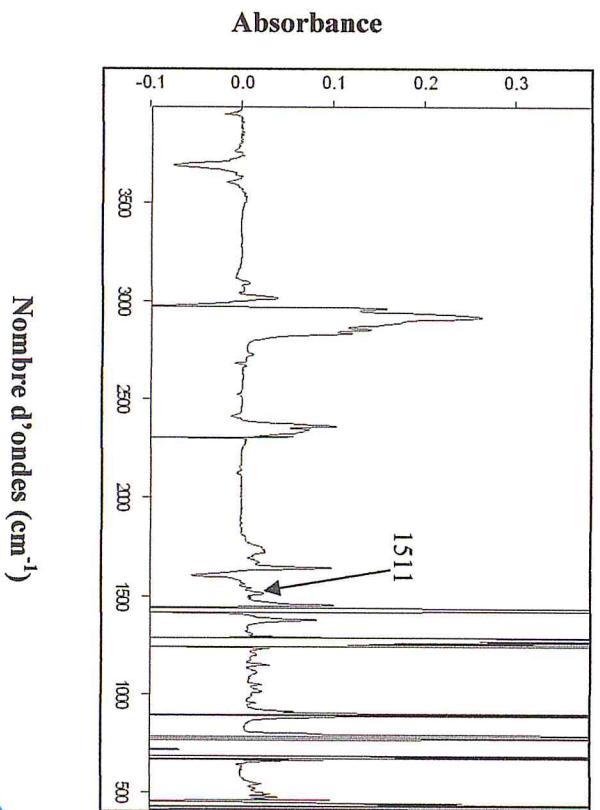
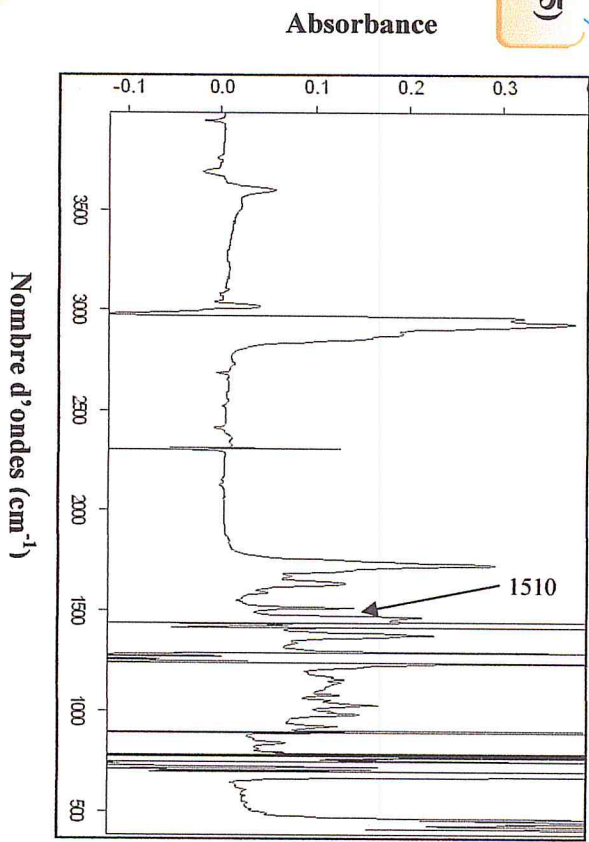
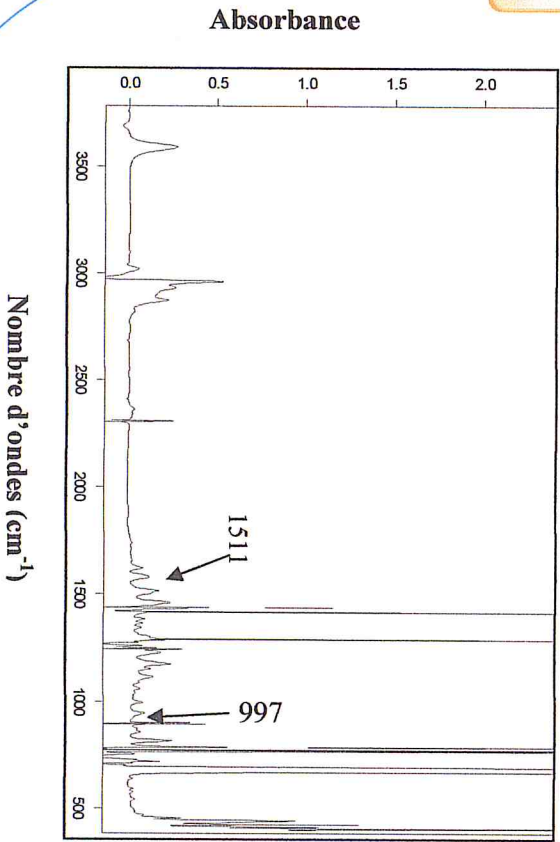


Figure II.22 : Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles diluées dans CH₂Cl₂ (5) myrte (6) romarin (7) thym (8) zeste d'orange

II.7.2.2 Analyse PLS-IRTF des huiles essentielles diluées dans CH₂Cl₂

Le tableau II.15 résume les résultats des concentrations prédites et théoriques des trois composantes et de la fraction phénolique dans différentes huiles diluées directement dans CH₂Cl₂.

Tableau II.15: Résultats de prédiction des trois composés et de la fraction phénolique dans les huiles essentielles diluées directement dans CH₂Cl₂

HE	Composantes/ fraction phénolique	Concentration théorique en mg.ml ⁻¹	Concentration prédite en mg.ml ⁻¹ C±σ*
Anis étoilé	Eugénol	-	0.17±0.00
	Trans anéthol	2.75 [78]	2.43±0.19
	Vanilline	-	0.06±0.00
	Fraction phénolique	-	2.59±0.18
Clous de girofle	Eugénol	2.59 [79]	2.13±0.14
	Trans anéthol	-	-0.00±0.00
	Vanilline	-	0.03±0.00
	Fraction phénolique	-	2.01±0.15
Armoise	Eugénol	-	0.29±0.01
	Trans anéthol	-	-0.00±0.00
	Vanilline	-	0.46±0.03
	Fraction phénolique	-	-0.03±0.00
Carvi	Eugénol	-	0.25±0.08
	Trans anéthol	-	0.09±0.00
	Vanilline	-	1.82±0.01
	Fraction phénolique	-	-0.03±0.00
Romarin	Eugénol	-	0.21±0.04
	Trans anéthol	-	-0.0±0.00
	Vanilline	-	0.58±0.07
	Fraction phénolique	-	-0.03±0.00
Myrte	Eugénol	-	0.17±0.00
	Trans anéthol	-	-0.00±0.00
	Vanilline	-	0.03±0.00

	Fraction phénolique	-	0.29±0.02
Thym	Eugénol	-	2.55±0.03
	Trans anéthol	-	-0.00±0.00
	Vanilline	-	0.03±0.00
	Fraction phénolique	-	0.42±0.00
Zest d'orange	Eugénol	-	0.18±0.01
	Trans anéthol	-	0.02±0.00
	Vanilline	-	0.03±0.00
	Fraction phénolique	-	0.01±0.00

* : Valeur moyenne ± déviation standard de deux mesures indépendantes.

D'après les résultats du tableau II.15, on remarque que :

- Pour l'anis étoilé et le clous de girofle, les concentrations prédites du trans anéthol et de l'eugénol, respectivement, sont proches de la concentration théorique. Le trans anéthol est absent dans le clous de girofle. Dans le cas de l'anis étoilé l'eugénol représente une valeur de 0.17 mg.ml⁻¹. Cette valeur est due probablement à d'autres composés d'huile essentielle qui absorbent dans la même bande (région) [78-79]. Par contre, la concentration de la vanilline est faible dans les deux huiles essentielles. Les valeurs de prédiction de la fraction phénolique dans ces deux huiles essentielles confirment ces résultats.
- Chez les huiles essentielles d'armoise, de carvi et du romarin bien qu'il existe des teneurs faibles des étalons, la fraction phénolique indique l'absence de ces composés. Ce qui est en accord avec la documentation [80-82].
- Dans le myrte et le thym, malgré qu'il n'existe pas réellement les trois étalons, la fraction phénolique présente des valeurs de 0.29 mg.ml⁻¹ et 0.42 mg.ml⁻¹, respectivement, qui montre probablement la présence de composés phénoliques différents des étalons et possédant un noyau aromatique [83-84].
- Dans le cas du zeste d'orange, les concentrations prédites de l'eugénol, trans anéthol et vanilline sont de 0.18 mg.ml⁻¹, 0.02 mg.ml⁻¹ et 0.03 mg.ml⁻¹, respectivement, celle de la fraction phénolique est très faible (0.01 mg.ml⁻¹), ce qui explique probablement l'absence de ces composés dans cette huile essentielle. Résultat conforme avec la documentation [85].

A cause des faibles teneurs voire absence des composés dans les huiles essentielles on a pensé faire appel à l'enrichissement (addition standard). C'est fait exprès, pour que la valeur ajoutée soit la valeur théorique et donc un moyen pour vérifier le modèle développé.

II.7.3 Analyse PLS-IRTF des huiles essentielles enrichies

II.7.3.1 Addition standard

L'addition standard peut être la méthode de choix, en raison de certaines interférences dues à la nature complexe de la matrice, ou bien lorsqu'on ne peut pas reproduire la composition de l'échantillon. Donc cette méthode permettra de réduire les erreurs de manipulation et de calculer d'une manière précise la concentration de l'analyte dans la matrice complexe.

Ici une série d'échantillons est préparée. Chaque échantillon est enrichi par une quantité bien précise d'analyte. Et ensuite, les échantillons préparés sont soumis à l'analyse.

II.7.3.2 Préparation des huiles essentielles enrichies

A une masse bien précise de chaque huile essentielle on a ajouté une quantité donnée de chaque étalon. Les mélanges dilués dans 2 ml de solvant ont été analysés par PLS-IRTF (voir figure II.23-II.24).

La concentration de la fraction phénolique a été déduite chaque fois par la sommation des concentrations des trois étalons.

II.7.3.3 Analyse PLS-IRTF des huiles essentielles enrichies

On a résumé les résultats de prédiction des trois composés et la fraction phénolique des huiles essentielles avant et après l'enrichissement dans le tableau II.17.

II.7.3.4 Spectres IRTF des huiles essentielles enrichies et diluées dans CH₂Cl₂

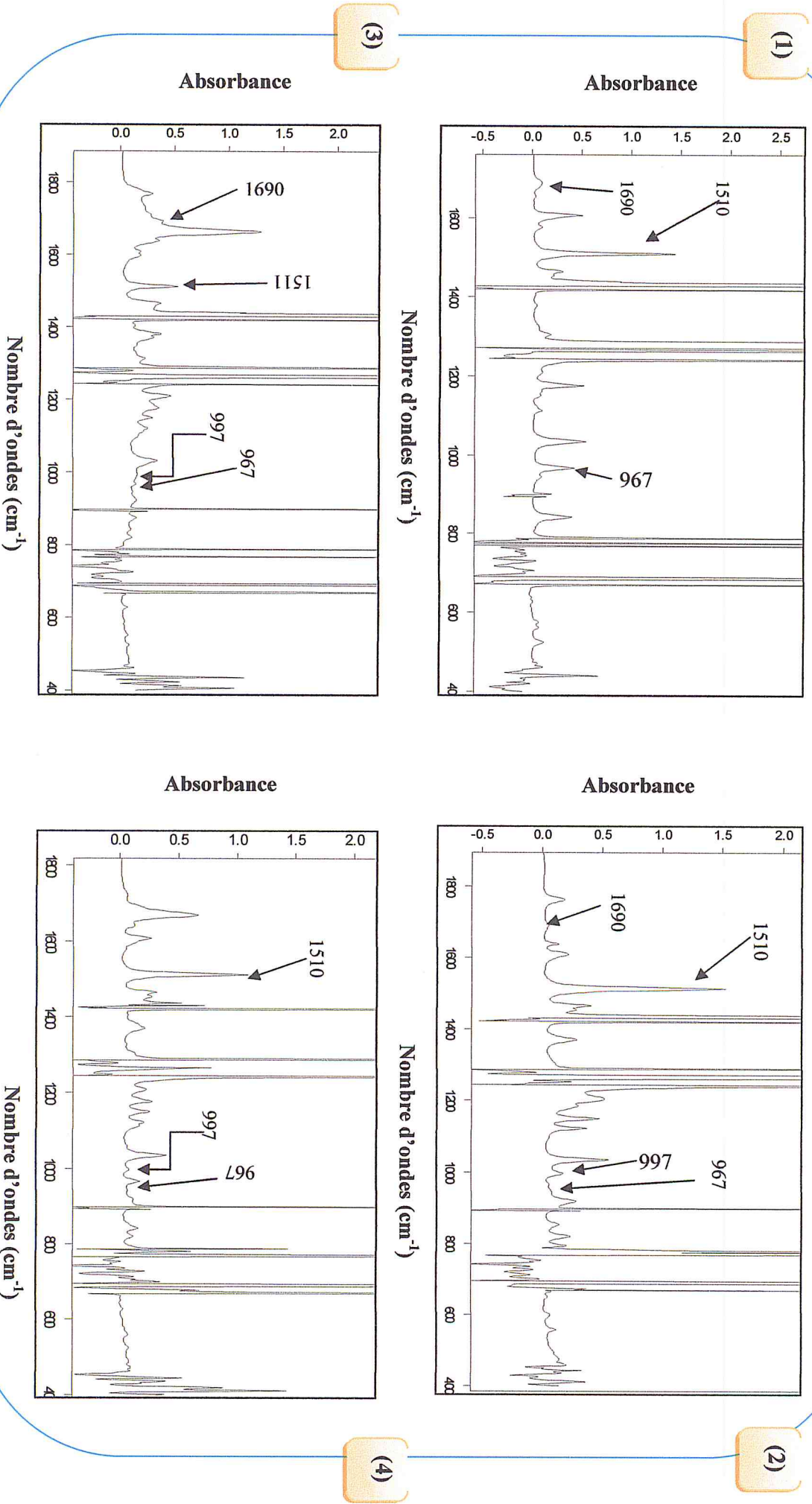


Figure II.23 : Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles enrichies dans CH₂Cl₂ (1) anis étoilé (2) clous de girofle (3) armoise (4) carvi

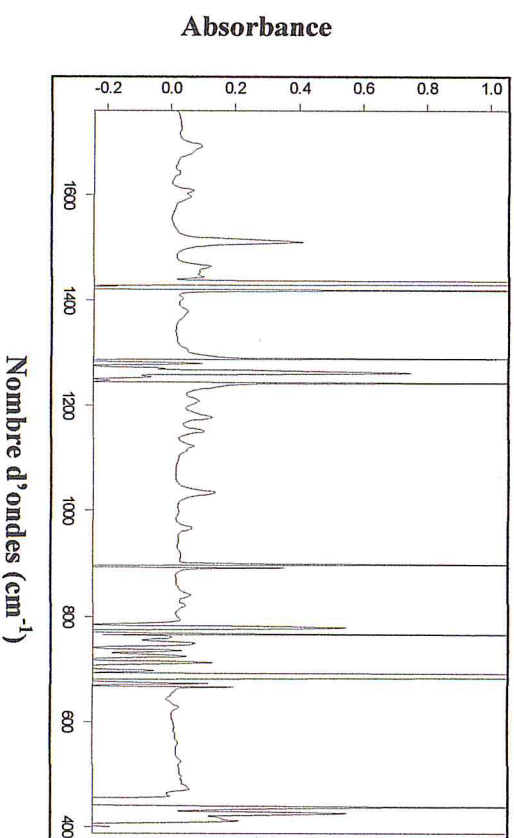
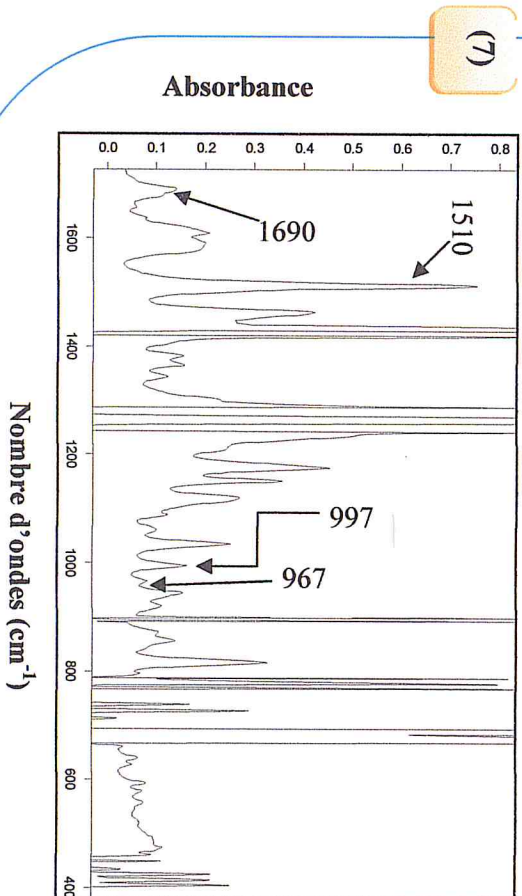
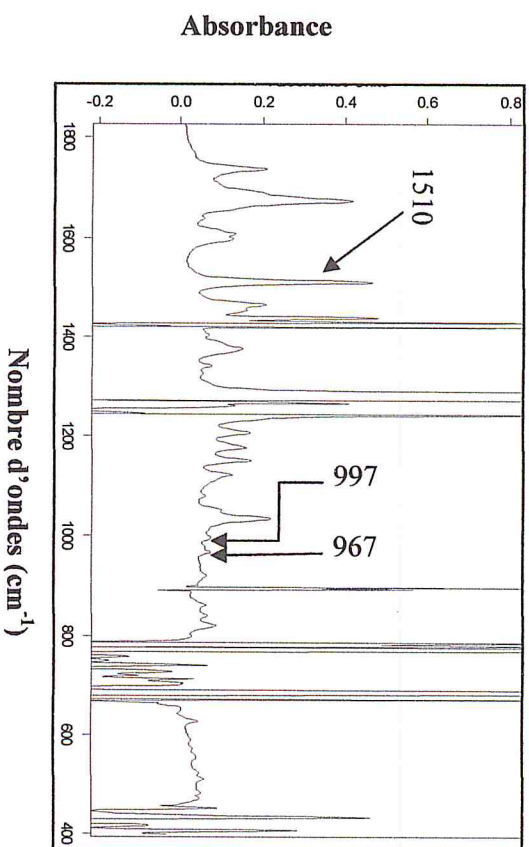
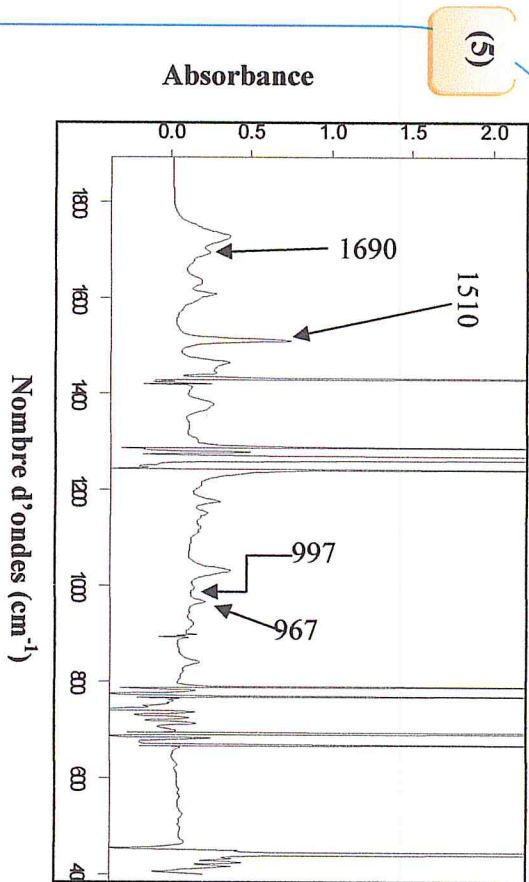


Figure II.24 : Spectres IRTF d'absorbance des huiles essentielles enrichies dans CH₂Cl₂ (5) myrte (6) romarin (7) thym (8) zeste d'orange

Tableau II.16 : Résultats de prédiction des trois composés et de la fraction phénolique des huiles essentielles avant et après l'enrichissement

Huiles essentielles	Etalons	Concentration présente avant l'enrichissement mg.ml ⁻¹ C±σ*	Concentration ajoutée en mg.ml ⁻¹	Concentration trouvée après l'enrichissement mg.ml ⁻¹ C±σ**	Exactitude (précision %)
Anis étoilé	Eugénol	0.17±0.00	0.3	0.17±0.00	36.17
	Trans anéthol	2.43±0.19	1.5	4.36±0.02	110.94
	Vanilline	0.06±0.00	0.25	0.24±0.00	77.42
Clous de girofle	Fraction phénolique	2.59±0.18	2.05	4.49±0.01	96.76
	Eugénol	2.13±0.14	1.15	4.53±0.02	138.10
	Trans anéthol	-0.00±0.00	0.1	0.17±0.00	170
Armoise	Vanilline	0.03±0.00	0.1	0.13±0.00	100
	Fraction phénolique	2.01±0.15	1.35	4.74±0.01	141.07
	Eugénol	0.29±0.01	0.3	0.57±0.00	96.61
Carvi	Trans anéthol	-0.00±0.00	0.25	0.36±0.00	144
	Vanilline	0.46±0.03	0.35	0.70±0.00	86.42
	Fraction phénolique	-0.03±0.00	0.9	1.53±0.00	170
Carvi	Eugénol	0.25±0.08	1.6	1.66±0.00	89.73
	Trans anéthol	0.09±0.00	1.45	1.48±0.01	96.10
	Vanilline	1.82±0.01	0.35	1.37±0.00	63.13
Carvi	Fraction phénolique	-0.03±0.00	3.4	3.38±0.01	100.30

Romarin	Eugénol	0.21±0.04	0.6	0.83±0.00	102.47
	Trans anéthol	-0.00±0.00	0.3	0.27±0.00	90
	Vanilline	0.58±0.07	0.25	0.93±0.00	112.05
Myrte	Fraction phénolique	-0.03±0.00	1.15	1.36±0.00	121.43
	Eugénol	0.17±0.00	0.2	1.05±0.00	283.78
	Trans anéthol	-0.000±0.00	1.15	1.16±0.01	100.87
	Vanilline	0.03±0.00	0.15	0.03±0.00	16.67
	Fraction phénolique	0.29±0.02	1.5	2.19±0.01	122.35
	Eugénol	2.55±0.03	1.2	4.19±0.02	111.73
Thym	Trans anéthol	-0.00±0.00	0.4	0.28±0.00	70
	Vanilline	0.03±0.00	0.3	0.31±0.00	93.94
	Fraction phénolique	0.42±0.00	1.9	2.17±0.01	93.53
Zeste d'orange	Eugénol	0.18±0.01	0.75	0.44±0.00	47.31
	Trans anéthol	0.02±0.00	0.45	0.57±0.00	121.28
	Vanilline	0.03±0.00	0.15	0.24±0.00	133.33
	Fraction phénolique	0.015±0.00	1.35	1.26±0.00	92.31

* : Valeur moyenne ± déviation standard de deux mesures indépendantes.

** : Valeur moyenne ± déviation standard de trois mesures dépendantes.

$$\text{Exactitude \%} = \frac{\text{Concentration trouvée}}{\text{Concentration présente} + \text{Concentration ajouté}} * 100$$

D'après les résultats représentés dans le tableau II.17, on constate que pour chaque huile essentielle, l'exactitude oscille autour de 100% pour une ou plusieurs composantes. Des valeurs élevés ou faibles des concentrations prédites sont dues probablement à la composition complexe des différentes matrices, en ce qui concerne la fraction phénolique, on remarque que les valeurs des concentrations prédites sont généralement excellentes, mais parfois elles sont données en excès, ce qui peut être expliqué par la nature des composés phénoliques existants.

Conclusion générale

Conclusion générale

La partie principale de ce mémoire a été consacrée au développement d'une calibration multicomposé pour la détermination simultanée des phénylpropènes dans des huiles essentielles d'origine végétale.

Dans un premier temps, nous avons sélectionné les conditions opératoires appropriées pour effectuer ce travail et optimiser enfin les paramètres analytiques de la calibration multicomposé.

Pour procéder à la calibration PLS-IRTF et obtenir les bonnes valeurs de prédiction, nous avons considéré deux domaines de concentrations.

Un domaine réduit de dix solutions étalons contenant les trois analytes (eugénol, trans anéthol et vanilline). Les concentrations de ce domaine et les proportions entre les analytes sont choisies arbitrairement.

Différents modèles PLS ont été construits en considérant les bandes séparées de chaque composante avec une bande commune de ces composantes et différents modes d'intégration. On a sélectionné le mode R pour l'eugénol en considérant le maximum de bande à 997 cm^{-1} , et le mode K pour le trans anéthol, la vanilline et la fraction phénolique en considérant le maximum des bandes à 967 cm^{-1} , 1690 cm^{-1} et 1510 cm^{-1} respectivement.

Les résultats des analyses consécutives démontrent que le modèle PLS développé est adéquat pour la détermination simultanée des trois analytes et la fraction phénolique, en fournissant un coefficient de corrélation compris entre 0.999 et 0.991, permettant d'estimer la bonne qualité de calibrage et une erreur d'analyse faible de l'ordre de 0.3.

Ensuite, nous avons élargi notre domaine vers les faibles concentrations. Dix autres solutions étalons contenant des concentrations différentes des trois composantes ont été préparées.

Différents modèles PLS ont été construits en considérant les bandes séparées de chaque composante avec une bande commune de ces composantes et différents modes d'intégration. On a sélectionné le mode R pour l'eugénol, le trans anéthol et la vanilline en considérant le maximum des bandes à 997 cm^{-1} , 967 cm^{-1} , 1690 cm^{-1} respectivement, et le mode K pour la fraction phénolique en considérant le maximum de bandes à 1510 cm^{-1} .

Les résultats des analyses successives démontrent que le mode PLS développé est adéquat pour la détermination simultanée des trois analytes et de la fraction phénolique, en fournissant un coefficient de corrélation compris entre 0.997 et 0.990, permettant d'estimer la bonne qualité de calibrage et une grande précision d'analyse (erreur <0.3).

L'application concerne huit huiles essentielles de plantes obtenues par hydrodistillation ou entraînement à la vapeur d'eau. Il s'agit de l'anis étoilé, le clous de girofle, l'armoise, la carvi, le romarin, le myrte, le thym et le zeste d'orange.

L'analyse directe (sans traitement préalable) des huiles essentielles diluées dans CH_2Cl_2 avec ou sans ajouts donne des valeurs de concentrations prédites qui sont en accord avec les données bibliographiques.

L'utilisation de la bande commune aux composés phénoliques (phénylpropènes) a confirmé les résultats obtenus pour chaque composante.

Références bibliographiques

1. S. Madjour, « Etude phytochimique et évaluation de l'activité antibactérienne d'une labiée rosmarinus officinalis », Mémoire de Master, Université Med Khider, Biskra, (2014).
2. Khenaka Karima., «Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminal chez l'ovine» diplôme de Magister en Microbiologie Appliquée, option Biotechnologies Microbiennes, université Mentouri Costantine (2011).
3. Khadija Rhayour., «Etude du mécanisme de l'action bactéricidé des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum» thèse de Doctorat National, UFR : Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Faculté des sciences Dhar Mehrez –Fès- (2002).
4. J. Lynch, «Analyse physico-chimique des catalyseurs industriels : manuel pratique de caractérisation», (2001) 243-244.
5. C. Ducauze, «Chimie analytique, analyse chimique et chimiométrie : Concept, démarche et méthode», (2014).
6. L. Fatela, «Utilisation de la spectroscopie proche infrarouge comme un outil PAT pour la quantification de substances en solution», thèse de Doctorat, Université Joseph Fourier Grenoble, (2012)
7. C. M. Simionescu, «Application of FTIR Spectroscopy in Environmental Studies», chapitre 2 (<http://creativecommons.org/licenses/by/3.0>), (2012).
8. M. Dubernet, «Utilisation de l'analyse infrarouge à transformée de Fourier pour l'analyse œnologique de routine Laboratoire Dubernet, 9A, quai d'Alsace -11100 Narbonne», Revue Française d'œnologie-mars/avril-N°181 (2000).
9. M , Farnaz, «Spectroscopie FTIR quantitative de réflectance et transmittance diffuses», thèse de Doctorat, école polytechnique fédérale Lausanne, (1991).

10. R. David, Jr. Lide, S. A. Rossmassler, «Status report on critical compilation of physical chemical data» annual review of physical chemistry, V. 24 (1973) ,135-158.
11. E. ZIEMONS, «étude en temps réel du processus d'extraction de la tagitinine c en fonction des caractéristiques physico-chimiques du CO₂ supercritique a l'aide de fibres optiques couplant un spectrophotomètre IRTF a un extracteur a fluide supercritique », thèse de doctorat, Université de Liège, (2007).
12. Y. Daghbouche, S. Garrigues, M. Teresa Vidal, M. De la Guardia, «Flow injection FTIR determination of caffeine in soft drink», analytical Chemistry, 69 (1997), 1086-1091.
13. Y. Roggo, «Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimiométrie» thèse de Doctorat, Université de Lille, (2003).
14. D. Bertrand, E. Dufour, «La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques» 2^{ème} Ed, (2006).
15. <http://www.emse.fr/~pbreuil/amv/>
16. J. SIEBERT KARL., «Chemometrics in brewing-a review», journal of the American society of brewing chemists, Food Science and Technology Departement, Comell University, Geneva, V. 59 (2001), 147-156.
17. G. DENIS., «Détermination de la maturité des AVOCATS HASS par imagerie hyper spectrale» mémoire de maîtrise en génie de la production automatisée, l'école de technologie supérieure, (2008).
18. J. El Haddad, « Chimie métrique appliquée à la spectroscopie de plasma induit par laser (LIBS) et à la spectroscopie terahertz », thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, (2013)
19. M. Y. Talpur, H. Kara, S.T.H. Sherazi, H. F. Ayyildiz, M. Topkafa, F. N. Arslan, S. Naz, F. Durmaz, Sirajuddin, « Application of multivariate chemometric techniques

- for simultaneous determination of five parameters of cotton seed oil by single bounce attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy », *Talanta* (129), (2014), 473-480.
20. F. Despagne, D. L. Massart, «Neural networks in multivariate calibration. *Analyst* », 123, (1998), 157–178.
 21. S.D. Brown, « Transfer of Multivariate Calibration Models », *Comprehensive Chemometrics*, 143, (2009), 345-378.
 22. P. Geladi, B. Kowalski, « Partial least squares regression »: A tutorial *AnalyticaChimicaActa*, 185, (1986), 1-17.
 23. T. Boubellouta, «Apports de spectroscopies infrarouges et de fluorescence couplées à la chimiométrie pour la caractérisation de la structure de matrices fromagères et des relations structure-texture», thèse de Doctorat, Université Blaise Pascal, (2008).
 24. V. Muracciole, « Définition et mise en place d'un outil temps réel d'analyse des caractéristiques physiques des semences sèches », Thèse de doctorat, Université d'Angers, (2009).
 25. S. Vancolen, «Statistique La régression PLS», Diplôme Postgrade en Statistique Groupe de Statistique Université de Neuchâtel Suisse, (2004).
 26. H. Wold., «Estimation of principal component and related models by iterative least squares, *Multivariate Analysis*», ed. P.R. Krishnaiah, Newyork : Academic Press, (1966) 391-420.
 27. S. Wold, Martens, H. & Wold, H., «The multivariate calibration problem in chemistry solved by the PLS method», in proc. Conf. Matrix Pencils, Ruhe A. & Kagstrm B. Ed, *Lecture Notes in Mathematics*, (1983) 286-293.
 28. M. Stone, & Brooks, R., «Continuum regression : Cross-validated sequentially constructed prediction embracing ordinary least squares, partial lest squares, and principal components regression», *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*,

52 (1990) 237-269.

29. M. Tenenhaus., «La regression PLS, théorie et pratique», ed : Techno, Paris, (1998).
30. S. Aouadhi, « Atlas des risques de la phytothérapie traditionnelle étude de 57 plantes recommandées par les herboristes », mémoire de master spécialisée en toxicologie 2010, Faculté de médecine de Tunis
31. M. Ali Asdadi, « Remède ou poison? Badiane » Infosanté : la revue des professionnels de la santé et du médicament, 2014.
32. X. Fan Song, « Plantes médicinales chinoises introduites dans la pharmacopée française », Thèse de doctorat, Université Joseph Fourier. Grenoble, France, (2013).
33. Géraldine Chabert, « myrtacées et aromathérapie », thèse de doctorat, Université Joseph Fourier. Grenoble, France, (2013).
34. J. Bruneton, «Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales », Techniques et Documentations, Lavoisier, (1999).
35. K. Rhayour, «Etude du mécanisme de l'action bactéricidé des huiles essentielles sur Esherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum», thèse de Doctorat National, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah.- Fès- (2002).
36. D. Laurent, « Armoise Commune "Artemisia vulgaris"», Université Catholique de Lille, France.
37. D. Cohen, « Les huiles essentielles à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né », thèse de doctorat Université Joseph Fourier, Grenoble, France, (2013).
38. N. H. BOUKRI, « Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout », Mémoire de Master, Université Kasdi Merbah, Ouargla, (2014).

39. P. Filliat, « Les plantes de la famille des Apiacées dans les troubles digestifs » thèse de doctorat, Université Joseph Fourier. Grenoble, France, (2012).
40. K. KANOUN, « Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine) », Mémoire de Magister, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, (2011)
41. F. KHOLKHAL, « Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euiliatus* », thèse de Doctorat, Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, (2013).
42. M. Merchier, « thym commun "thymus vulgaris" », Licence 3 environnementaliste, Université Catholique de Lille, France.
43. François Tchoumboungang, P. M. Jazet Dongmo, M. Lambert Sameza, E. G. Nkouaya Mbanjo, G. B. Tiako Fotso, P. Amvam Zollo, CH. Menut, « Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun », V. 13 (2009), 77-84
44. N. Bousbia, « Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires », thèse de Doctorat, Université d'Avignon; Institut national agronomique (El Harrach, Algérie), French, (2011).
45. Z. Hellal, « Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*) » Mémoire de Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi-ouzou, Algérie, (2011).
46. B. Chebli, M. Achouri, L.M. Idrissi Hassani, M. Hmamouchi, « Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* », Journal of Ethnopharmacology, V.89, Issue 1, (2003), 165-169

47. V. K. Bajpai, A. Rahman et S.C. Kang, «Chemical composition and inhibitory parameters of essential oil and extracts of *Nandina domestica* Thunb to control food-borne pathogenic and spoilage bacteria», *International Journal of food Microbiology*, (125), (2008), 117-122.
48. S. A. Burt, «Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods-a review», *International Journal of Food Microbiology*, (94), (2004), 223-253
49. S. A. A. J. Van de Braak et G. C. J. J. Leijten, «Essential oils and oleoresins : a survey in the Netherlands and other major markets in the European Union», CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam, (1999), 116.
50. J.L. Sallé, «Les huiles essentielles synthèse d'aromathérapie», Frison-Roche, (2004).
51. J.Q.Cu, «Extraction de compositions odorantes végétales par divers solvants organiques», thèse de l'institut Nationale Polytechnique, Toulouse, France, (1990).
52. K. Koba, K. Sanda, K. Raynaud, J. Millet, J.P. Chaumont, «Composition chimique des huiles essentielles d'*Aeollanthus pubescens* Benth. Acclimatée au Togo», V.7, (2004), 1107-1111.
53. N. Bouzouita, F. Kachouri, M. Ben Halima, M.M. Chaabouni, «Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *juniperus phoenicea*», *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, (2008), 119-125.
54. A. Gauvin, H. Ravaomanarivo, J. Smadja, «Comparative analysis by qaz chromatography-mass spectrometry of the essential oils from bark and leaves of *Cedrelopis grevei* Baill, an aromatic and medecinal plant from Madagascar», *Journal of Chromatography A*, 1029, (2004), 279-282.
55. A. Mansour, «Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de l'espèce *centaurea africana*», thèse de Magister, Université Mentouri Constantine, (2009).

56. J. Bruneton, «Pharmacognosie», phyto-chimie, plantes médicinales (1997).
57. J.J Macheix, A. Fleuriet, C. Jay-Allemand, «Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique», Presses polytechnologiques et universitaires romandes, (2005), 4-5.
58. Y. Kening, D.L. Vincenzo, B. Normand, «Creation of metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to phytophthora infestans», (1995), 1787-1799.
59. A. El haib, «Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques», thèse de Doctorat, Université de Toulouse, (2011).
60. F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, et M. Idaomar., «Biological effects of essential oils» - A review, Food and Chemical Toxicology, (46), (2008), 446-475.
61. E. Teuscher, R. Anton, et A. Lobstein, «Plantes aromatiques épicées, aromates», condiments et huiles essentielles, Edition Tec and Doc, Lavoisier : (2005), 266-272.
62. S. Berger, D. Sicher., «Classics in Spectroscopy: Isolation and Structure Elucidation of Natural products», WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim (2009).
63. G. Kozam, «The effect of eugenol on nerve transmission», Oral Surg Oral Med Oral pathol (44), (1977), 799-805.
64. T. Ohkubo et M. Shibata, «The selective capsaicin antagonist capsazepine abolishes the antinociceptive action of eugenol and guaiacol», J Dent Res (76), (1997). 848-851.
65. JA. Garibaldi, J. Greenlaw et J. Choi, «Fotovotjah M., Treatment of postoperative pain», CDA Journal (23), (1995), 71-72.
66. SA. Guénette, F. Beaudry, JF. Maria et P. Vachon, «Pharmacokinetics and anesthetic activity of eugenol in mal Sprague-Dawley rats», J Vet Pharmacol Ther

- (29), (2006), 265-270.
67. P. Lebeau et G. Courtois., «Traité de pharmacie chimique – Tome II», Masson et Cie, (1929).
 68. AC. Reddy et BR. Lokesh, «Studies on anti-inflammatory activity of spice principales and dietary n-3 polyunsaturated fatty acids on carrageenan-induced inflammation in rats», *Ann nutr metab* (38), (1994), 349-358.
 69. SM. Laekeman, VL. Hoof, A. Haemers, VAD. Berghe, AG. Herman et AK. Vlietink, «Eugenol, a valuable compound for in-vitro experimental research and worthwhile for further in-vivo investigation», *Phytother Res* (4), (1990), 90-96.
 70. HL. Newmark, «Plant phenolics as potential cancer prevention agents», *Adv Exp Med Biol* (401), 25-34, (1996).
 71. F. Chen, Z. Shi, KG. Neoh et ET. Kang, «Antioxidant and antibacterial activities of eugenol and carvacrol-grafted chitosan nanoparticles», *Biotechnol Bioeng* (104), (2009), 30-39.
 72. M. Al-Masum, «Method for synthesizing (E)-Anethol and Related Compounds By Cross Coupling Reaction of potassium allyltrifluoroborate and 4-bromoanisol and aryl halides», brevet numéro US 20120010298 A1, (2012).
 73. Ch. Pontillon., «Fermentation de la vanille : la vanilline», *Revue de botanique appliquée et d'agriculture coloniale Année 1930 Volume 10 Numéro 104* pp. 218-224.
 74. J. Kuligowski, G. Quintàs, S. Garrigues, M. de la Guardia., «Determination of lecithin and soybean oil in dietary supplements using Partial Least Squares-Fourier transformation infrared spectroscopy», *Talanta*, (2008), 229-234.
 75. J. Kuligowski, D. Carrion, Quintàs, S. Garrigues, M. de la Guardia., «Direct determination of polymerised triacylglycerides in deep-frying vegetable oil by near infrared spectroscopy using Partial Least Squares regression», *m Food Chemistry*, (2012), 353-359.

76. S. Amenta, S. Garrigues, M. de la Guardia, P. Rondeau., «Attenuated total reflection-Fourier transformation infrared analysis of the fermentation process of pineapple», *Analytica Chimica Acta*, (2005), 99-106.
77. Z. Bouhsain, S. Garrigues, M. de la Guardia., «Similtaneous sttoped-flow determination of Paracetamol, Acetylsalicylique Acid and Caffeine in Pharmaceutical formulations by Fourier Transform Infrared Spectroscopy With Partial Least-Squares Data Treatment», *the analyst journal*, (1996), vol, 121, 1935-1938.
78. A. Padmashree, N. Roopa, A.D. Semwel, G.K. Sharma, G. Agathain, A.S. Bawa, «Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants », *Food Chemistry*, 104, (2007), 59-66.
79. H. Cui, Ch. Zhao, L. Lin, «The specific antibacterial activity of liposome encapsulated Clove oil and its application in tofu », *Food Control* 56, (2015), 128-134.
80. R. Belhattab, L. Amor, G.J. Barroso, L. G. Pedro, A. C. Figueiredo, «Essential oil from *Artemisia herba-alba* Asso grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey », *Arabian Journal of Chemistry*, 7, (2014), 243-251.
81. B. Laribi, K. Koukia, T. Bettaieba, A. Mougoua, B. Marzoukb, «Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: A comparative study », *Idustriel Corps and Products*, 41, (2013), 312-318.
82. Y. Zaouali, T. Bouzaine, M. Boussaid, «Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities », *Food and Chemical Toxicology*, 48, (2010), 3144-3152.

83. W. Aidi Wannas, B. Mhamdi, J. Sriti, M. Ben Jemia, O. Ouchikh, Gh. Hamdaoui, M. Elyes Kchouk, B. Marzouk, «Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower », *Food and Chemical Toxicology*, 48, (2010), 1362-1370.
84. K. Hosnia, I. Hassenb, H. Chaabanec, M. Jemlic, S. Dallali, H. Sebeid, H. Casabianca, «Enzyme-assisted extraction of essential oils from thyme (*Thymus capitatus* L.) and rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Impact on yield, chemical composition and antimicrobial activity », *Industrial Crops and Products*, 47, (2012), 291-299.
85. M. A. Ferhat, B. Y. Meklati, J. Smadja, F. Chemat, «An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel», *Journal of Chromatography A*, 1112, (2006), 121-126.

ANNEXE

Tableau 1 : Classe des phénols

Classe	Structure
Phénols simple, benzoquinones	C ₆
Acide Hydroxybenzoïque	C ₆ -C ₁
Acéthophénones, acide phénylacétique	C ₆ -C ₂
Acide hydroxycinnamique, phénylpropanoïdes (coumarines, isocoumarines, chromones, chromènes)	C ₆ -C ₃
Napthoquinones	C ₆ -C ₄
Xanthones	C ₆ -C ₁ -C ₆
Stilbènes, anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆
Flavonoïdes, isoflavonoïdes	C ₆ -C ₃ -C ₆
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂
Biflavonoïdes	(C ₆ -C ₃ -C ₆) ₂
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n
Tanins Condensés (proanthocyanidines ou flavolants)	(C ₆ -C ₃ -C ₆) _n



Figure 1: Les standards utilisés dans cette étude : Eugénol, Trans anéthol, Vanilline

ANNEXE

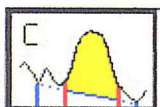
Définition des modes d'intégrations



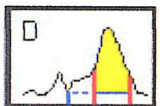
A) L'intégrale est limitée par le spectre, par l'axe des X et par les limites paramétrées.



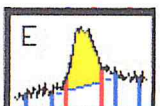
B) L'intégration est calculée par rapport à une ligne de base locale reliant les deux fréquences paramétrées.



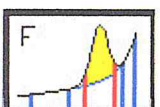
C) La ligne de base est déterminée à l'aide d'un premier et d'un deuxième point de ligne de base. L'intégration porte sur la zone " remplie " de la bande.



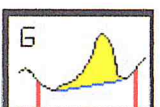
D) La ligne de base est définie horizontalement par le point de ligne de base préalablement paramétré.



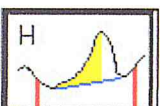
E) Pour limiter le bruit, on calcule la moyenne des valeurs d'intensité respectives aux points de ligne de base 1 à 4. La ligne de base est formée à l'aide de ces moyennes, auxquelles s'ajoutent les valeurs x des 2^e et 3^e points de ligne de base.



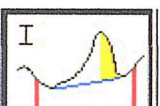
F) La ligne de base est déterminée par la tangente entre le 1er et le 2e ainsi qu'entre le 3e et le 4e point de ligne de base.



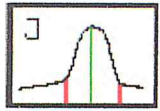
G) Recherche du maximum d'intensité entre la première et la deuxième limite. Recherche du minimum à gauche et à droite de ce maximum. La ligne de base relie ces deux minima.



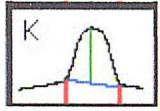
H) Calcul de la surface délimitée par le minimum gauche et le maximum.



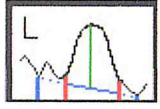
I) Calcul de la surface délimitée par le maximum et le minimum droit.



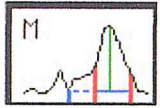
J) Intensité absolue maximale de la bande.



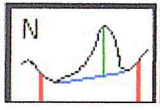
K) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base locale.



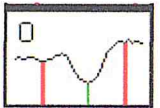
L) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base paramétrée.



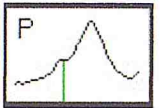
M) Intensité de la bande par rapport à une ligne de base horizontale.



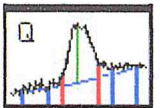
N) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base reliant les deux minima.



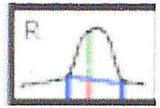
O) Minimum entre les deux limites paramétrées.



P) Intensité à la fréquence paramétrée.



Q) Intensité par rapport à la ligne de base.



R) Pic d'intensité à une fréquence donnée.