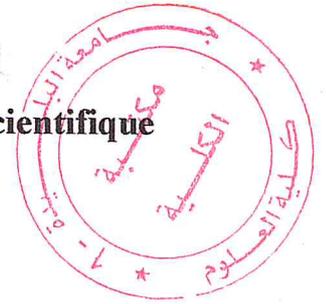


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université BLIDA I
Faculté des Sciences
Département de Chimie



Mémoire Présenté par

BOUDISSA Hafidha

En vue d'obtenir le diplôme de Master

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

Titre

**Le dosage des monoterpènes dans les huiles essentielles par
la combinaison PLS-IRTF : Exploitation du spectre dérivé**

Soutenu publiquement en Septembre 2015 devant le jury composé de :

Z. CHEMAT	MCA	Président	Université de Blida I
N. TOUALIT	MCB	Examinatrice	Université de Blida I
Y. DAGHBOUCHE	Pr	Promotrice	Université de Blida I

MA-540-116-1

Promotion 2014-2015

Remerciements

Avant tout je remercie Dieu, le Tout Puissant, le Miséricordieux, qui nous a donné l'opportunité de mener à bien ce travail

Je tiens à remercier tous ceux qui, d'une façon ou d'une autre, pour leur aide pendant notre travail de fin d'études dont certains par leurs conseils et leurs connaissances scientifiques, et d'autres par leurs soutiens et leurs présences dans les moments les plus pénibles.

Mes sincères remerciements à ma promotrice Prof Y.DAGHBOUCHE, professeur à l'Université de Blida pour les enseignements qu'elle m'a prodigué, pour son encadrement et les conseils apportés tout au long de ce travail ainsi que pour la confiance qu'elle m'a témoigné au cours des manipulations.

Mes vifs remerciements adressés Dr N. BOUZIDI, maître de conférences à l'Université de Blida pour toute sa disponibilité et son aide.

Je remercie également le Prof. M. ELHATTAB, professeur à Université de Blida I de m'avoir accueilli dans son groupe.

Je désire aussi remercier Dr S. KASMI, responsable du Master chimie des substances naturelles pour toute sa disponibilité et son aide et son soutien sur le plan scientifique et humain.

Je tiens à remercier vivement Dr Z.CHEMAT d'avoir accepté d'assurer la présidence de jury de mon mémoire.

Je remercie également tous les membres de jury pour l'honneur qu'ils me font d'avoir acceptés de juger ce travail.

Un grand merci aux ingénieurs de laboratoire de département de chimie qui je les remercie pour m'avoir aidées à réaliser mon travail expérimentale.

Je n'oublie surement pas mes collègues et amies qui ont contribué par leur soutien et amitié.



Dédicaces

A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour

*A ceux qui m'ont encouragé et soutenu dans mes
moments les plus difficiles et ceux à qui je dois tant*

*A ma mère pour son amour et son support continu
et l'âme de mon père qui avait toujours souhaité ma réussite.*

A mes frères mes sœurs et à toute ma famille.

*A tous mes ami(e)s en qui j'ai toujours trouvé le soutien
et le réconfort. Que ce travail soit le témoignage sincère et
affectueux de ma profonde reconnaissance pour tout*

ce que vous avez fait pour moi.

Résumé

Après la mise en évidence de l'intérêt pratique, la simplicité et la rapidité de calibration multivariable moyennant la combinaison PLS-IRTF, le premier objectif de cette étude consiste à exploiter d'avantage les paramètres du logiciel pour la détermination simultanée de camphre, carvaone, thymol et limonène dans différentes huiles essentielles.

Le spectrophotomètre infrarouge utilisé dispose d'un modèle de calibration multivariable qui n'est exploitable que si les spectres des étalons présentent des pics séparés et spécifiques. Le deuxième objectif fixé à travers cette étude est d'utiliser une bande interférée et de tester la calibration en utilisant le potentiel qu'offre le spectre dérivé.

Pour les trois étalons Camphre, Carvone et Thymol les meilleurs paramètres analytiques de calibrage sont obtenus en utilisant le mode d'intégration R des spectres d'ordre zéro alors que pour le limonène deux modèles de calibration PLS sont possibles, soit par le mode d'intégration I pour le spectre d'ordre zéro ou le mode d'intégration B pour le spectre de la 1^{ère} dérivé. Différents paramètres de détermination ont été étudié à savoir : (a) la sensibilité, (b) le domaine spectrale d'analyse et (c) le domaine de concentration.

L'analyse des échantillons réels par PLS-IRTF montre globalement des valeurs comparables entre les teneurs théoriques et prédites par le modèle de calibration développé et ce, avec un pourcentage de récupération qui varie entre 90 et 110% et une faible valeur d'erreur d'analyse.

Mots clés : Spectrométrie IRTF, PLS, Calibration multivariable, Camphre, Carvone, Thymol, mode d'intégration, Huiles essentielles.

Abstract

After the description of the interest practices, the simplicity and the speed of multivariate calibration with the help of combination PLS-IRT. The primary goal of this study consists in exploiting of advantage the parameters of the software for the simultaneous determination of camphor, carvaone, thymol and limonene in various essential oils.

The infrared spectrophotometer used has a multivariable model of calibration which is exploitable only if the spectra of the standards present separate and specific peaks. The second objective set through this study is to use an interfered band and to test the calibration by using the potential which offer the derived spectrum.

For the three standards Camphor, Carvone and Thymol the best analytical parameters of calibration are obtained by using the mode of integration R of the spectra of order zero whereas for limonene two modes of calibration PLS are possible, that is to say the mode of integration I for the spectrum of order zero or the mode of integration B for the spectrum of 1st derived. Different parameters from determination were studied namely: (a) sensitivity, (b) the field spectral of analysis, (c) the area of concentration.

The analysis of the real samples by PLS-IRTF shows overall comparable values between the contents theoretical and predicted by the model of calibration developed and this, with a percentage of recovery which varies between 90 and 110%and one low error value of analysis.

Keywords: Spectrometry IRTF, PLS, multivariable Calibration, Camphor, Carvone, Thymol, mode of integration, essential Oils.

ملخص

بعد لقاء الضوء على الأهمية العملية للمعايرة المتعددة المتغيرات المتمثلة في السهولة و السرعة من خلال الدمج PLF- IRTF .

الهدف الأول لهذه الدراسة يتمثل في إستغلال خصائص البرنامج من أجل إيجاد في آن واحد كل من الكافور، الكارفون، الثيمول، الليمونين في مختلف الزيوت العطرية.

جهاز الأشعة تحت الحمراء المستعمل مجهز بنموذج معايرة متعددة المتغيرات التي لا يمكن إستغلالها إلا إذا كانت أطيف المعايير تحتوي على قمم منفصلة و محددة.

الهدف الثاني المسطر من خلال هذه الدراسة هو إستخدام موجة متداخلة و إختبار المعايرة بإستعمال الإمكانية المقدمة من طرف الطيف المشتق.

أحسن الخصائص التحليلية للمعايرة بالنسبة للمعايير الثلاثة الكافور، الكارفون، الثيمول، تم الحصول عليها بإستخدام نوع التكامل R لأطيف ذات الدرجة الصفر. بينما لليمونين ، نوعين من المعايرة PLS ممكنة ، إما بإستخدام نوع التكامل I مع طيف الدرجة صفر، أو نوع التكامل B مع طيف مشتق من الدرجة الأولى .

مختلف خصائص التحديد قد تم دراستها و هي : (أ) الحساسية، (ب) المجال الطيفي للتحليل، (ج) مجال التركيز.

تحليل العينات الحقيقية بإستخدام PLS-IRTF يظهر بصورة عامة إمكانية المقارنة بين القيم النظرية و القيم المتنبأة بواسطة نموذج المعايرة المطور و هذا بنسبة إستراج تتراوح بين 90 % و 100 % مع قيمة خطأ تحليل ضئيلة.

كلمات البحث: الأشعة الطيفية IRTF ، PLS ، المعايير متعدد المتغيرات، الكافور، كارفون، الثيمول، نوع التكامل، الزيوت العطرية.

Liste des figures

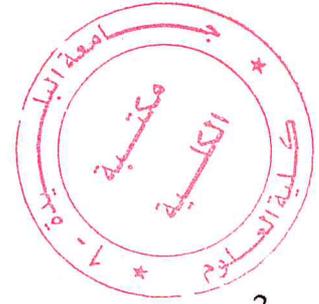


Figure 1 :	Schéma interféromètre de Michelson.....	2
Figure 2 :	Matrice des données spectrales X contenant les valeurs d'absorbance pour m variables spectroscopiques et n échantillons. La matrice Y contient les valeurs de la mesure de référence.....	5
Figure 3 :	Diagramme représentant les méthodes chimiométriques.....	6
Figure 4 :	spectromètre IR à transformée de Fourier.....	28
Figure 5 :	Gammes d'intégration.....	29
Figure 6 :	Etapes suivies pour le développement du modèle de calibration.....	30
Figure 7 :	Spectres IRTF d'absorbance de chaque monoterpène (4 mg/ml) : (a) Camphre, (b) Carvone, (c) Thymol et (d) Limonène préparés directement dans le CH ₂ Cl ₂	32
Figure 8 :	Spectres IRTF d'absorbance d'un mélange de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène (4mg/ml).....	34
Figure 9 :	Spectres IRTF du premier dérivé de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène.....	35
Figure 10 :	Représentations graphiques des paramètres analytiques.....	39
Figure 11 :	Représentations graphiques des paramètres analytiques pour le limonène : (A) spectre d'ordre zéro modèle I et (B) spectre de la 1 ^{ère} dérivé modèle B	47
Figure 12 :	les spectres IRTF (800- 400 cm ⁻¹) d'absorbance d'un mélange de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène (4mg/ml).....	48
Figure 13 :	Montage d'hydrodistillation utilisé	56
Figure 14 :	Montage d'entraînement à la vapeur utilisé.....	63

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Classification de quelques des monoterpènes.....	10
Tableau 2 :	Composition chimique d'huile essentielle d'anis étoilé.....	14
Tableau 3 :	Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>l'Artemisia mesatlantica</i> récoltées au Maroc en Mars 2010 entre Ifrane et Boulmane	15
Tableau 4 :	Composition chimique d'huile essentielle de clous de girofle (<i>Syzygium aromaticum L</i>)	16
Tableau 5 :	Composition chimique d'huile essentielle du Carvi (carum carvi l).....	17
Tableau 6 :	Composition chimique d'huiles essentielles du <i>Myrtus communis L</i> dans Gilane Gharb.....	18
Tableau 7 :	Composition chimique d'huile essentielle de romarin (<i>Rosmarinus officinalis L</i>).....	19
Tableau 8 :	Composition chimique des huiles essentielles de thymus algeriensis et thymus ciliatus.....	21
Tableau 9 :	Compositions chimiques, composés groupés, fractions oxygénées, et rendements d'huiles essentielles obtenues par les extractions MAD et HD à partir des peaux d'orange fraîches.....	22
Tableau 10 :	Sensibilité des différentes modes d'intégration aux bandes séparés de chaque étalons de concentration 4 mg/ml.....	36
Tableau 11 :	Composition des solutions étalon (matrice de la calibration).....	38
Tableau 12 :	Paramètres analytiques fournit par le logiciel.....	40
Tableau 13 :	Paramètres analytique de Camphre.....	41
Tableau 14 :	Paramètres analytique du Carvone.....	42
Tableau 15 :	Paramètres analytique de Thymol.....	43
Tableau 16 :	Paramètres analytique de Limonène en considérant le spectre d'ordre zéro mode I.....	45
Tableau 17 :	Paramètres analytiques de Limonène en considérant le spectre de 1 ^{ère} dérivation.....	46
Tableau 18 :	Paramètres analytiques de Camphre... ..	49
Tableau 19 :	Paramètres analytiques du Carvone.....	50
Tableau 20 :	Paramètres analytiques de Thymol.....	51
Tableau 21 :	Paramètres analytiques de Limonène en considérant spectre d'ordre zéro mode I.....	52
Tableau 22 :	Paramètres analytiques de Limonène en considérant spectre de 1 ^{ère} dérivé... ..	53
Tableau 23 :	Composition des solutions étalons (matrice de la calibration).....	55
Tableau 24 :	Paramètres analytiques de Camphre.....	57
Tableau 25 :	Paramètres analytiques du Carvone.....	58
Tableau 26 :	Paramètres analytiques de Thymol.....	59
Tableau 27 :	Paramètres analytiques de limonène en considérant le spectre d'ordre zéro mode I.....	60

Tableau 28 :	Paramètres analytiques de limonène en considérant le spectre de la 1 ^{ère} dérivé	61
Tableau 29 :	L'analyse quantitative des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	64
Tableau 30 :	Pourcentage de récupérations de camphre calculé après analyse quantitative (mg/ml) des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	65
Tableau 31 :	Pourcentage de récupérations du carvone calculé après analyse quantitative (mg/ml) des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	66
Tableau 32 :	Pourcentage de récupérations de thymol calculé après analyse quantitative (mg/ml) des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	66
Tableau 33 :	Pourcentage de récupérations de limonène calculé après analyse quantitative (mg/ml) des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	67
Tableau 34 :	Modes d'intégration de logiciel OPUS 6.5.....	Annexe

Liste d'abréviations

ATR : attenuated total reflection (Réflexion totale atténuée)

CH₂Cl₂ : Dichlorométhane

CLHP : Chromatographie Liquide à Haute Performance

IRTF : infrarouge à transformation de Fourier

LD : limite droite

LIR : lointain infrarouge

LG : limite gauche

Max : maximum

MIR : moyen infrarouge

PIR : proche infrarouge

PLS : Partial least squares (Régression des moindres carrées partielle)

UV : ultraviolet

VIS : visible

TABLE DES MATIERES

Introduction	
Partie théorique	
I.1-Historique.....	1
I.2-Domaine spectral de zone infrarouge.....	1
I.3-Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF).....	1
I.4- Spectrométrie dérivée.....	3
I.5- Analyse qualitative et quantitative.....	3
II-La Chimiométrie.....	4
II.1-Méthodes chimiométriques.....	5
II.1.1-Calibration multivariable.....	7
II.1.1.1- Régression des moindres carrées partielle (PLS : Partial least squares).....	7
III-Les terpènes.....	9
III.1 Généralité.....	9
III.2.- Description des terpènes utilisés comme étalons.....	10
IV- Huiles essentielles	12
IV-1. Généralité.....	12
IV.2.- Echantillons étudiés.....	13
V.- Synthèse des travaux antérieurs PLS-IRTF.....	23
Partie expérimentale	
I-Objectif.....	28
II.- Matériel et méthodes	28
II.1.-Spectrophotométrie Infrarouge à transformée de Fourier (IRTF)	28
II.1.1-Spécificité du logiciel PLS (Quant1) et gammes d'intégration.....	29
II.2.- Réactifs.....	30
II.3.- Choix des étalons.....	30
II.4.- Procédure générale.....	30
III.- Résultats et discussion.....	31
III.1.- Identification des bandes séparées des étalons.....	31
III.1.1.-Sensibilité des différents modes d'intégration.....	35
III.2.- préparation de la matrice de calibration.....	37
III.2.1- Paramètres analytiques fournis par le logiciel.....	38
III.2.2.- Paramètres analytiques de chaque composante dans le mélange.....	40
III.2.3.-Paramètres analytique de limonène dans le mélange.....	44
III.3.- Optimisation des paramètres de détermination	47
III.3.1-Optimisation de la sensibilité de détermination.....	47
III.3.2.-Elargissement de domaine de concentration.....	54
III.3.3-Paramètres analytique des quatre composantes (camphre, carvone, thymol et limonène) dans le nouveau domaine de concentration.....	56
III.4.-Analyse PLS-IRTF des échantillons réels.....	62
III.4.1.-Préparation des huiles essentielles.....	62
III.4.2.- Analyse des huiles essentielles par PLS-IRTF.....	63
Conclusion	
Références bibliographique	
Annexe	

Introduction

L'importance et la valeur des plantes, revient à la présence des molécules chimiques complexes dans ces organes "feuilles, tiges, racines et graines", dites métabolites secondaires. Les Métabolites secondaires constituent un groupe biologiquement et chimiquement intéressant, qui font l'objet de nombreuses recherches, notamment la recherche de nouveaux composés bioactifs. Ces métabolites secondaires sont classés selon leur appartenance chimique en l'occurrence, les terpènes, les composés phénoliques, les alcaloïdes, polyacétylènes, les composés nitrile, et les chlorophylles.

Le dosage des produits de ces différentes classes chimiques présente une grande importance afin de pouvoir valoriser la plante ou même de voir s'il existe des possibilités de différenciation entre les espèces. Cependant le dosage présente deux difficultés importantes : la première est liée intimement à la variation de la composition chimique d'une même espèce, en fonction de la saison, de la région ou même du protocole de préparation de l'extrait et la deuxième est relative à la complexité de la matrice. De ce fait, les méthodes de calibration monovariante ne peuvent résoudre ce genre de problèmes et le développement de méthodes d'analyse chimiométriques s'impose, permettant ainsi la détermination simultanée de plusieurs composés, et l'utilisation d'un domaine de concentration important pour suivre la variation de la composition chimique

La chimiométrie est la science de l'acquisition, de la validation et du traitement de données dans le domaine de la chimie analytique. Elle inclut les méthodes de calibration multivariante basées sur les traitements mathématiques du signal et les méthodes statistiques pour extraire l'information présente dans les données spectrales. L'application de ces méthodes dans le domaine de la spectroscopie infrarouge connaît un succès particulier du fait d'appliquer des outils statistiques sur des collections spectrales renfermant un grand nombre de variables mesurées pour un grand nombre d'échantillons présentant de faibles différences.

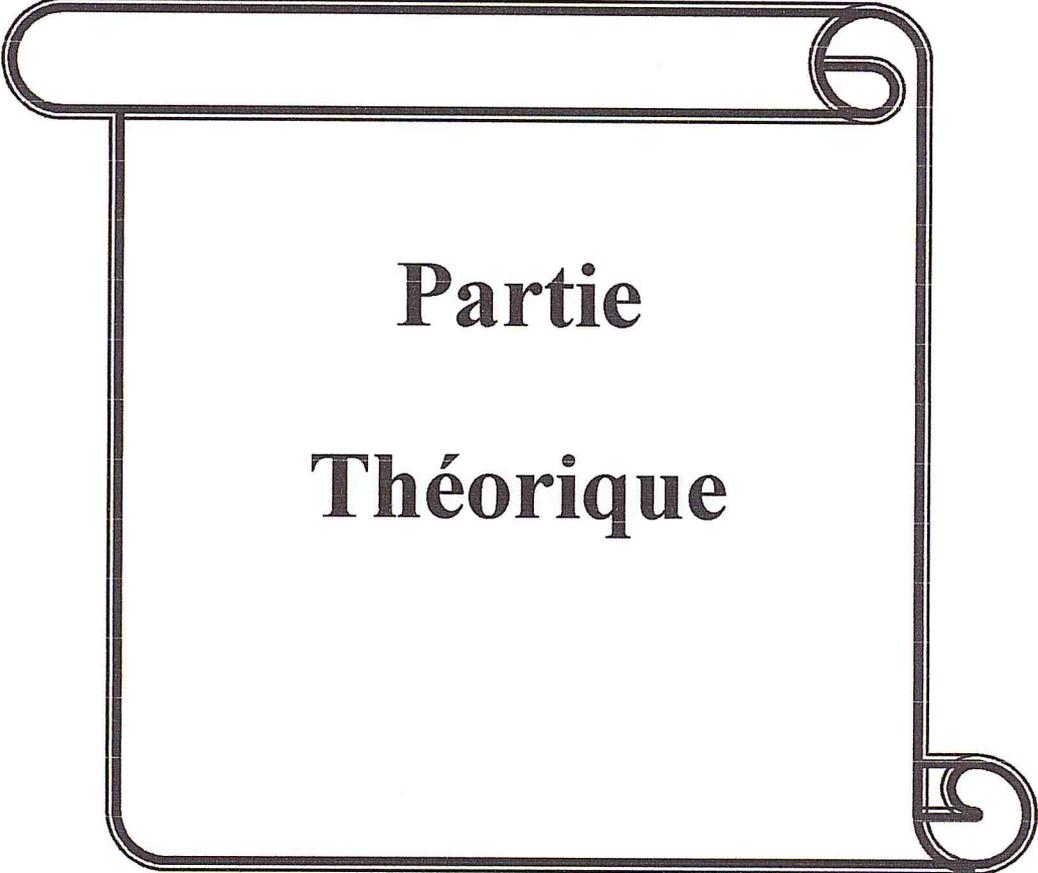
La méthode prédictive de calibration multivariante la plus utilisée pour le traitement des données spectroscopiques IRTF est la régression des moindres carrés partiels (PLS). Les travaux réalisés dans ce domaine de recherche (PLS-IRTF) s'intéressent généralement, au développement de modèles dans les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

Suite à cela, nous avons fixé comme objective, à travers cette étude, le développement d'une nouvelle méthode de dosage par spectrométrie IRTF en exploitant les possibilités qu'offrent les méthodes de calibration multivariées. Le modèle optimisé sera appliqué aux monoterpènes présents dans les huiles essentielles des plantes.

Ce manuscrit est réparti en deux parties :

- la première partie est une synthèse bibliographique dans laquelle, on présentera la spectrométrie IRTF, la chimiométrie son utilisation et les travaux dont elle a fait l'objet.
- La seconde partie est une étude expérimentale consacrée à :
 - ❖ L'extraction de l'huile essentielle des différentes matières végétales par entraînement à la vapeur d'eau et hydrodistillation ,
 - ❖ Le dosage des monoterpènes étudié par IRTF- PLS dans les huiles essentielles, en utilisant le spectre d'ordre zéro ou le spectre de la 1^{ère} dérivé.

À partir de l'interprétation des résultats expérimentaux, nous aboutirons à une conclusion générale qui nous permettra d'avoir des perspectives liées à ce travail.



Partie
Théorique

I- La 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'onde plus élevées que celles du domaine visible. Ces radiations furent appelées infrarouge par Becquerel vers 1870 [1].

Au début de XX^e 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 [1,2].

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) [1] ; 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 [2].

I.2-Domaine spectral de 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 [3].

Le rayonnement infrarouge se divise en trois régions : le proche infrarouge de 800 à 3000 nm, l'infrarouge moyen de 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 [1].

I.3-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 qui absorbent l'échantillon, ainsi que les intensités de ces absorptions. Les fréquences sont utiles pour l'identification de composition chimique de l'échantillon

en raison du fait que les groupes fonctionnels sont responsables de l'absorption du rayonnement à des fréquences différentes [4].

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 [3].

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 1 [5].

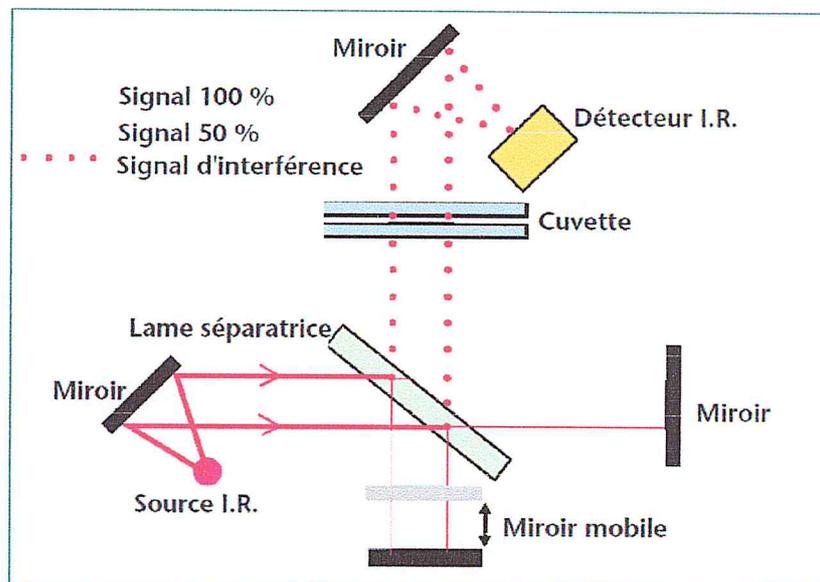


Figure 1 : Schéma interféromètre de Michelson

L'échantillon est placé dans le trajet des rayons lumineux à proximité du détecteur. Si le miroir mobile se déplace à 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 [3].

L'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 [6].

I.4- Spectrométrie dérivée

C'est une technique analytique utilisée pour améliorer la résolution de bandes d'absorption très voisines ou se recouvrant dans un spectre d'ordre zéro. Cette méthode met très clairement en évidence les changements de pente des spectres et permet ainsi de noter les points d'inflexion avec précision. De plus, dans un spectre dérivé d'ordre n , une bande du spectre d'origine se traduit par l'existence de $n+1$ bandes alternativement positives et négatives, ce qui entraîne la formation de n points d'annulation faciles à déterminer avec une très grande précision [7].

Le principe consiste à calculer par un procédé mathématique les courbes dérivées des spectres pour améliorer la précision de certains dosages. Ce procédé est appliqué par exemple quand l'analyte se confond dans le spectre global du mélange dans lequel il se trouve. Les tracés des courbes dérivées sont en effet beaucoup plus accidentés que ceux des spectres d'origine (appelés *spectre d'ordre zéro*) dont ils mettent en relief les faibles variations de pente [8].

I.5- 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 structure chimiques.

L'analyse qualitative se réalise généralement en deux étapes : (1) Identification des groupements fonctionnels de la substance. (2) Confirmation de la structure moléculaire par comparaison de la totalité du spectre avec celui d'un composé connu [9]. 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) [10].

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 (<1% en solution) il est nécessaire d'établir une courbe d'étalonnage et de s'assurer que les spectres sont enregistrés dans les conditions optimale [11].

II-La 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 [12].

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 chimiométriques [13].

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 [14]. 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 les données mesurées aux données observées [15].

La chimiométrie est aujourd'hui appliquée à de nombreux domaines de la chimie analytique, notamment aux méthodes séparatives telles que la chromatographie et l'électrophorèse et aux méthodes spectroscopiques telles que Raman, IRTF, SPIR, VIS-SPIR. 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 [16].

La spectroscopie IRTF en combine avec la chimiométrie est une technique rapide et conviviale, facile et de 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 [17].

II.1-Méthodes chimiométriques

Les spectres PIR des échantillons sont enregistrés et regroupés dans une matrice de données, notée X . Cette matrice X contient les valeurs numériques d'absorbance observées pour les m variables (longueurs d'onde ou nombres d'onde) pour n échantillons. La matrice X est représentée sur la figure 2. En parallèle, des mesures chimiques sont réalisées afin de déterminer les valeurs de la mesure de référence de la propriété à prédire. Ces valeurs sont regroupées dans la vectrice colonne, noté Y , qui peut être généralisable à une matrice Y contenant plusieurs colonnes dans le cas où plusieurs propriétés sont à prédire.

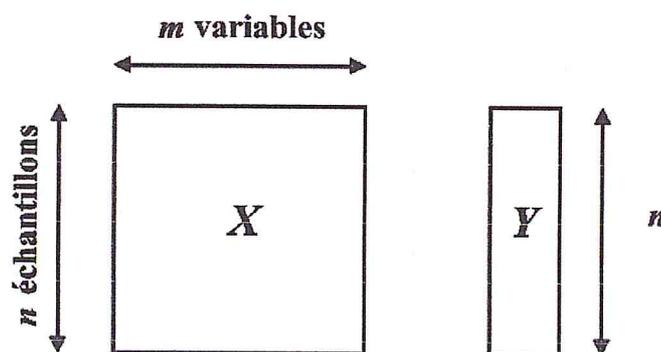


Figure 2 : Matrice des données spectrales X contenant les valeurs d'absorbance pour m variables spectroscopiques et n échantillons. La matrice Y contient les valeurs de la mesure de référence.

Le choix de la méthode d'analyse est fonction de l'objectif de l'étude. Il peut s'agir d'une analyse quantitative, Y contient alors des valeurs continues comme par exemple des valeurs de concentrations. Il peut s'agir de la détermination d'une propriété, de l'appartenance à une classe. Dans ce cas, l'analyse est qualitative [18].

La figure 3 regroupe les méthodes chimiométriques fondés aussi bien sur un modèle linéaire que non linéaires.

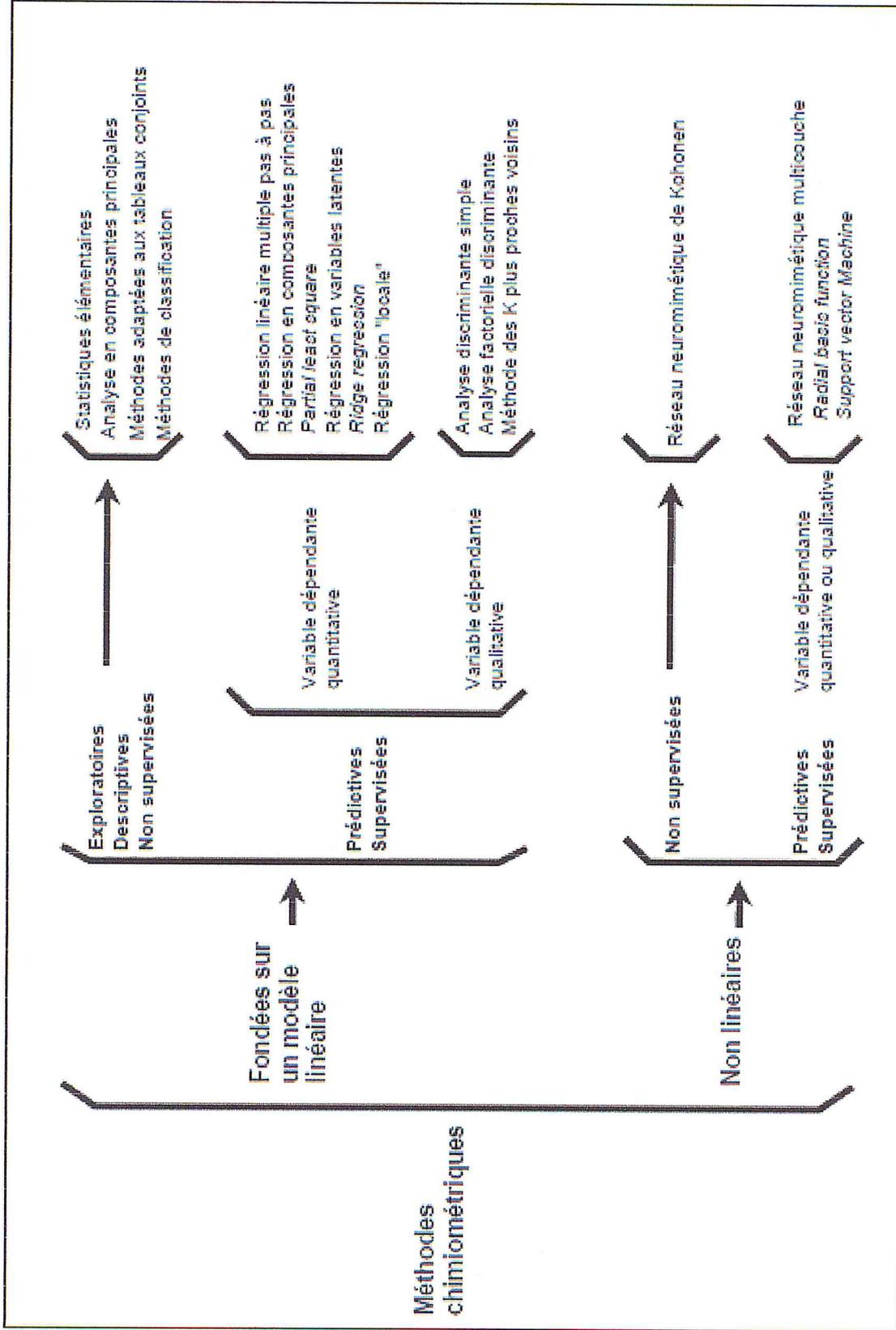


Figure 3 : Diagramme représentant les méthodes chimiométriques [19].

II.1.1-Calibration multivariable

La calibration multivariable est l'application la plus réussie de la combinaison de la chimiométrie 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 chimiométrie appliquée à la chimie analytique. Cependant, il y a un grand nombre de raisonnements de diverses écoles. Pour certains, la chimiométrie 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 les 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].

II.1.1.1- Régression des moindres carrés partielle (PLS : Partial least squares)

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 reçu 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 multiple. Dans sa forme la plus simple, un modèle linéaire spécifie la relation (linéaire) entre une (ou des) variables dépendantes (réponses) Y et un ensemble de variables 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 la régression multiple. Elle est particulièrement utile quand on a besoin de prédire un ensemble de variables dépendantes à partir d'un ensemble très grand de variables explicatives (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 traitent 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 il y en a plusieurs. Dans le premier cas, on parle de régression PLS univariée (PLS1) et dans le second cas de régression PLS multivariée (PLS2) [23].

III-Les terpènes

III.1 Généralité

Les terpènes font partie des métabolites secondaires des plantes et particulièrement des composés organiques volatils. Les terpènes sont des hydrocarbures non azotés, très réactifs. Le terme terpénoïde désigne un ensemble de substances présentant le squelette des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide, lactone, etc) donc ils n'ont pas une fonction universelle et sont différemment représentés dans les différentes familles, genres et espèces [26]. Ces terpènes sont biosynthétisés à la suite du couplage d'au moins 2 entités à 5 carbones dont la structure est celle de l'isoprène ou 2-méthylbuta-1,3-diène [27]. Leur classification est basée sur le nombre de répétitions de l'unité de base isoprène : hémiterpènes (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterpènes (C25), triterpènes (C30), tetraterpènes (C40) et polyterpènes [28].

Beaucoup de terpènes servent comme des additifs dans les industries alimentaires et cosmétiques et plusieurs d'entre eux possèdent des activités biologiques : Anti-microbienne, insecticide, anti-carcinogène, anti-inflammatoire, anesthésique et anti-histaminique (des mono et sesquiterpènes), diurétique (β -eudesmol), neuroprotective (α -terpinène, γ -terpinène, et trans-caryophyllène). On peut citer également les propriétés anti-tumorales et cytotoxiques des diterpènes (taxol), et des activités anti-oxydantes attribuées surtout aux diterpènes phénoliques [29].

Les monoterpènes avec les sesquiterpènes, un des éléments principaux des essences végétales aromatiques appelées huiles essentielles. Par exemple : camphre, géraniol, menthol, limonène et citral. Les monoterpènes sont émis par les plantes. Ils forment des aérosols pouvant servir de noyau de condensation des nuages. Ils augmentent la clarté des nuages et refroidissent le climat.

Les monoterpènes sont une classe de terpènes constitués de deux molécules d'isoprènes (C_5H_8). Ils peuvent être linéaires, monocyclique (thymol, menthol) ou bicyclique (camphre) (voir tableau 1) [22]. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales [30].

Tableau1 : Classification de quelques monoterpènes [26, 27].

La classe	Sous classe	Le nom systématique	La fonction chimique
Monoterpène	Acyclique	Géraniol	Alcool
		Nérol	
		Ocimène	Hydrocarbure
		Myrcène	
	Monocyclique	Menthol	Alcool
		Thymol	
		Limonène	Carbure
		Terpinolène	
		Terpinène	
		Carvone	
	Bicyclique	Bornéol	Alcool
		Camphre	Cétone
		Alpha et bêta pinène	Hydrocarbure

III.2.- Description des terpènes utilisés comme étalons

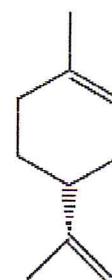
- **Limonène**

Le d-limonène (1-méthyl-4-(1-méthyléthényl) cyclohexène) est un terpène monocyclique ($C_{10}H_{16}$) avec une odeur de citron. d-limonène (énantiomère R) est un constituant majeur de plusieurs huiles d'agrumes [31].

Le d-limonène est un liquide incolore possédant une odeur brillante, fraîche et propre, caractéristique des agrumes.

Ce terpène combustible est soluble dans les solvants organiques et la plupart des huiles mais pratiquement insoluble dans l'eau. Le d-limonène s'oxyde lentement en présence d'air.

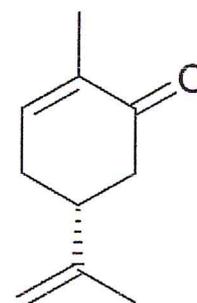
Le d-limonène est utilisé depuis un demi-siècle comme arôme dans les parfums, savons, crèmes lotions et détergents et comme saveur dans les aliments et boissons. Il servirait comme matière première dans la synthèse de résines terpéniques, pour la production de succédanés d'huiles essentielles et pour la fabrication d'édulcorants [32].



- **Carvone**

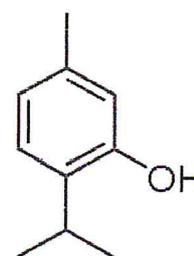
La carvone se trouve naturellement dans les graines et les fruits de nombreuses plantes. La R-carvone (L-carvone) (lévogyre) est le constituant majeur des essences de menthe verte, tandis que la S-carvone (D-carvone) (dextrogyre) est présente dans les graines de carvi et le cumin [26, 33]. La L-carvone (5 (R) -isopropényl-2-méthyl-2-cyclohexène-1-one) est largement utilisé en tant que substance odorante ou composant aromatisant dans la pâte du dentifrice ou de la poudre, la gomme à mâcher, des bains de bouche [34].

La carvone (2-méthyl-5(1-méthyléthényl)-2-cyclohexén-1-one) ($C_{10}H_{14}O$) est un liquide incolore à jaune pâle ayant une température d'ébullition de $230^{\circ}C$. La molécule de la carvone appartient à la famille des terpènes à la classe du monocyclique et possède un carbone asymétrique. Elle existe donc sous deux formes des énantiomères ayant les mêmes propriétés chimiques et physiques et qui ne diffèrent que par leur pouvoir réfractaire [26].



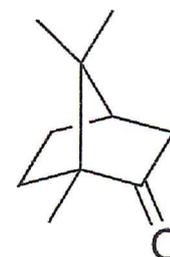
- **Thymol**

Le thymol (5-méthyl-2-isopropyl-phénol) est un monoterpène cyclique contenu dans l'huile de thym et dans les huiles essentielles (volatiles) de plusieurs autres plantes [35, 36]. Il se présente sous forme de cristaux incolores avec une odeur aromatique caractéristique. Il est soluble dans les alcools, le gras, l'huile et peu soluble dans l'eau. On l'utilise notamment pour ses propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques ainsi que pour stabiliser les préparations pharmaceutiques [37].



- **Camphre**

Est un composé organique bicyclique aromatique solide en forme des grains blancs très parfumés, substance concrète, blanche et demi-transparente, d'une odeur très forte, d'une saveur amère et brûlante, qu'on extrait de certains



végétaux. C'est une cétone à partir de laquelle on synthétise le bornéol et le camphène. Il est insoluble dans l'eau, il est soluble dans les solvants organiques.

L'usage du camphre était principalement médical, ses vertus sont nombreuses : antispasmodique, stimulant cardiaque, il est apprécié aussi pour son action sur le système nerveux, pour guérir les fièvres continues et intermittentes, voire comme agent de prévention générale.

Le camphre renommé pour ses propriétés antiseptiques, anti-infectieuse et antivirale, c'est un puissant antalgique, un analgésique, un anti-inflammatoire, un tonique général, un stimulant respiratoire, il agit contre les douleurs rhumatismales, les douleurs musculaire et même contre les migraines [26].

IV- Huiles essentielles

IV-1. Généralité

Les essences ou huiles essentielles, connues également sous le nom d'huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en partie cristallisées ; elles n'ont pas le toucher gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur plus ou moins forte, suave, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier [38].

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne. Cependant, elles possèdent également des propriétés cytotoxiques qui les rapprochent donc des antiseptiques et désinfectants en tant qu'agents antimicrobiens à large spectre.

Dans les domaines phytosanitaires et agroalimentaires, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées

alimentaires. Les huiles essentielles jouent un rôle écologique dans les interactions végétales, végétale-animales et pourraient même constituer des supports de communication par des transferts de messages biologiques sélectifs. En effet, elles contribuent à l'équilibre des écosystèmes, attirent les abeilles et des insectes responsables de la pollinisation, protègent les végétaux contre les herbivores et les rongeurs, possèdent des propriétés antifongiques, antibactériennes, allopathiques dans les régions arides et peuvent servir de solvants bioactifs des composés lipophiles. Traditionnellement, les huiles essentielles sont présentes dans le processus de fabrication de nombreux produits finis destinés aux consommateurs. Ainsi, elles sont utilisées dans l'agroalimentaire pour aromatiser la nourriture. Elles sont également utilisées dans l'industrie de la parfumerie, de la cosmétique et de la savonnerie.

Dans les plantes, les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule être couvertes d'une cuticule. Elles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines. Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit des terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane [30].

Il existe plusieurs techniques pour obtenir des huiles essentielles. La principale et la plus ancienne est la distillation à la vapeur d'eau [39].

IV.2.- Echantillons étudiés

➤ *Anis étoilé (Illicium verum)*

La badiane est cultivée depuis très longtemps. Ses feuilles sucrées étaient déjà réputées en Chine, 4 000 ans avant J.C, comme masticatoire et parfum religieux. Aujourd'hui, c'est le fruit appelé "anis étoilé" qui est valorisé. L'huile essentielle est obtenue par la distillation des fruits avec un rendement moyen de 2,5%. Sa composition est dominée par la présence de trans-anéthole (90%) (tableau 2), lui conférant son arôme et ses propriétés distinctives. Elle exhibe une certaine activité oestrogen-like. Son action se rapproche de l'action protectrice de l'estriol. L'anéthole est analgésique et sédative.

Les études ont aussi démontré qu'elle est anti-inflammatoire, anticoagulante et antiulcéreuse. On a pu mettre aussi en évidence son action inhibitrice de l'acétylcholinestérase, ce qui en fait une excellente candidate pour prévenir et traiter la maladie d'Alzheimer. Enfin, l'anéthole et l'huile essentielle d'anis étoilé sont révélés de bons antiviraux, entre autres contre le virus de l'herpès. Leur action s'exerce en neutralisant les virus à l'extérieur des cellules, les empêchant de pénétrer à l'intérieur des cellules [40].

Tableau 2 : Composition chimique d'huile essentielle d'anis étoilé [41].

Name of the compounds	Peak %
a-Pinene	0.12 ± 0.020
b-Pinene	0.03 ± 0.020
Myrcene	0.02 ± 0.003
a-Phellandrene	0.04 ± 0.001
3-Carene	0.15 ± 0.020
a-Terpinene	0.02 ± 0.001
p-Cymene	0.05 ± 0.003
Limonene	1.05 ± 0.040
trans-Ocimene	0.09 ± 0.010
a-Pinene	0.01 ± 0.001
cis-b-Ocimene	0.04 ± 0.001
c-Terpenene	0.03 ± 0.003
Terpinolene	0.29 ± 0.020
Linalool	0.12 ± 0.030
c-Terpineol	0.09 ± 0.020
4-Terpineol	0.08 ± 0.010
a-Terpineol	1.05 ± 0.120
Estragole	0.14 ± 0.020
cis-Anethole	93.9 ± 1.560
trans-Anethole	0.10 ± 0.010
a-Cubenene	0.01 ± 0.001
b-Clemene	0.10 ± 0.010
Carryophyllene	0.01 ± 0.002
Bergamotene	0.04 ± 0.002
D-Cardinene	0.02 ± 0.001
a-Cardinol	0.12 ± 0.020

➤ Armoise (*Artemisia mesatlantica*)

L'armoïse est utilisée comme remède de beaucoup de maladie tel que le traitement du diabète, bronchite, abcès, diarrhée et comme vermifuge. L'huile essentielle de l'Armoïse

est riche en principes actifs très demandés par les industries médicinales, pharmacologiques et cosmétologiques [42].

Le rendement moyen en huile essentielle est 0,5 %. Les analyses chimiques, par CG et CG/SM, ont permis d'identifier environ 99,77 % des produits volatils totaux de cette essence. La β -thujone (56,33 %) constitue le principal composé identifié parmi les soixante caractérisés suivi du camphène (7,48 %) et du camphre (4,17 %). La combinaison en composés volatils de cette espèce est variable, en termes de diversité et de concentration. L'huile essentielle d'*Artemisia mesatlantica* (tableau 3) comprend des esters terpéniques avec l'acétate de terpinyle, des alcools terpéniques comme l' α -terpinéol et des monoterpènes tel que le camphène, le myrcène, le tricyclène et le limonène. Il y a également des oxydes avec le 1,8 cinéole, des cétones sesquiterpènes dont essentiellement la pipéritone et les sesquiterpènes comprenant l' α -muurolène, et le Δ -cadinène [43].

Tableau 3 : Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de l'*Artemisia mesatlantica* récoltées au Maroc en Mars 2010 entre Ifrane et Boulmane [43].

N*	IK Biblio-graphie	IK	Constituant	Aire %
1	926	922	Tricyclène	0,09
2	931	928	α -thujène	0,83
3	939	943	α -Pinène	0,87
4	953	968	Camphène	7,48
5	976	972	Sabinène	0,25
6	980	975	β -pinène	0,08
7	991	986	Myrcène	0,19
8	1011	1016	Δ -3-carène	0,22
9	1018	1024	α -terpinène	0,47
10	1031	1027	Limonène	0,15
11	1033	1031	1,8-cinéole	2,63
12	1062	1055	cétone d'artemisia	0,50
13	1062	1064	δ -terpinène	0,88
14	1083	1083	Alcool d'Artemisia	0,08
15	1095	1095	α -oxide de pinène	0,52
16	1102	1101	α-thujone	1,38
17	1114	1114	β-thujone	56,33
18	1119	1118	Trans-pinan-2-ol	0,10
19	1133	1130	iso-3-thujanol	0,24
20	1136	1135	Cis- β -dihydro-terpinéol	1,93
21	1143	1140	Camphre	4,17
22	1158	1157	Trans- β -dihydro-terpinéol	0,30
23	1163	1161	Trans- β -Terpinéol	0,63
24	1177	1173	Terpin-4-ol	0,80
25	1181	1181	Thuj-3-en-10-al	0,09
26	1189	1187	α -terpinéol	0,26
27	1193	1193	Cis-pipéritol	0,61
28	1204	1204	Verbénone	0,16
29	1229	1224	Nordavanone	0,30
30	1258	1256	Trans myrtanol	0,77
31	1287	1287	δ -terpinène-7- al	0,23
32	1350	1350	α -acétate de terpinyl	0,17

33	1373	1368	longicyclène	0,11
34	1387	1372	Iso-longifolène	0,26
35	1398	1406	β -longipinène	0,12
36	1418	1412	E-Caryophyllène	0,61
37	1467	1465	9-épi- E -caryophyllène	0,44
38	1480	1481	D -germacrène	2,29
39	1499	1497	α -muurolène	0,66
40	1503	1502	A -germacrène	0,27
41	1514	1514	Cubébol	0,30
42	1524	1522	Δ - cadinène	0,17
43	1549	1551	Elémol	0,16
44	1581	1573	Oxyde de caryophyllène	0,89
45	1586	1580	Davanone	1,23
46	1595	1587	Cis alcool d'artenuuïque	0,31
47	1600	1599	Trans - β -élémonone	0,51
48	1606	1603	Epoxide II d' Humulène	0,92
49	1614	1612	1,10 -di- épi- cubénol	0,46
50	1627	1625	1- épi- cubénol	2,16
51	1637	1631	3 - iso - thujopsanone	0,18
52	1640	1636	Epi - α - cadinol	0,19
53	1649	1648	β -Eudesmol	0,30
54	1653	1655	α -cadinol	0,71
55	1674	1676	cadalène	0,56
56	1693	1684	Germacrone	0,30
57	1726	1723	Iso-longifolol	0,13
58	1741	1740	8- α - 11- élemodiol	1,39
59	1764	1769	14-oxy- α -muurolène	0,31
60	1814àp	181	Iso-acétate de longifolol	0,12

➤ Clous de girofle (*Syzygium aromaticum* L.)

L'essence de girofle est très riche en eugénol qui est utilisé pour la fabrication de la vanilline artificielle. La teneur en essence et en eugénol des différentes parties de la plante sont : (i) clou sec : environ 39% des clous frais, (ii) clous : 15-20% d'huile essentielle dont 78 à 98% d'eugénol, (iii) griffes : 4-6% d'huile essentielle dont 80 à 95% d'eugénol, (iv) antofles : 2-3% d'huile essentielle dont 53% d'eugénol, (v) feuilles : 1-3% d'huile essentielle dont 75 à 88% d'eugénol [44]. La composition chimique d'huile de clou de girofle ont été analysées utilisant CG-MS (tableau 4), L'eugénol (83,73%) c'est le composant majoritaire suivit par l'acétate d'Eugenyl. (11,37%) [45].

Tableau 4 : Composition chimique d'huile essentielle de clous de girofle (*Syzygium aromaticum* L) [45].

Composition	Proportion (%)	Composition	Proportion (%)
Eugenol	83.73	Eugenol acetate	11.37
β -caryophyllene	3.47	α -humulene	0.42
Methyl salicylate	0.28	Caryophyllene oxyde	0.27
Chavicol	0.10	Total	99.64

➤ Carvi (*carum carvi* L)

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a été étudiée par la chromatographie gazeuse et le GC-MS. Les constituants principaux d'huile essentielle de carvi sont la(R) carvone (37,98%) et le D-limonène (26,55%) a suivi du α -pinène(5,21), cis-carveol (5,01%) et du le myrcène (4,67%). 30composants ont été identifiés dans l'huile, expliquant 97,58% de toute l'huile (tableau 5) [46].

Tableau 5 : Composition chimique d'huile essentielle du Carvi (*carum carvi* L) [46]

Compounds	RI *	Relative content (%)
α -Pinene	939	5.17
β -Pinene	974	0.02
β -Myrcene	991	4.67
<i>p</i> -Cymene	1026	0.34
D-Limonene	1029	26.55
1,8-Cineol	1032	0.45
Linalool	1097	0.87
<i>cis</i> -Limonene oxide	1132	0.63
Menthone	1152	0.59
Menthol	1172	0.07
4-Terpineol	1174	1.34
γ -Terpinene	1179	0.17
<i>p</i> -Cymen-8-ol	1182	0.49
Dihydrocarvone	1200	1.21
<i>cis</i> -Carveol	1226	5.01
Cuminic aldehyde	1236	0.06
(<i>R</i>)-Carvone	1242	37.98
Dihydrocarveol	1253	1.08
α -Terpinene-7-al	1277	1.04
Bornyl acetate	1285	0.94
Cumin alcohol	1288	0.72
Eugenol	1356	1.45
Methyleugenol	1401	0.93
Germacrene D	1479	2.81
Myristicin	1513	0.05
Elenicine	1554	0.19
Caryophyllene oxide	1583	1.23
Apiol	1682	0.41
Phytol	2119	0.06
1,2-Benzenedicarboxylic acid, mono(2-ethylhexyl)ester	2549	1.05
Total		97.58

➤ Myrte (*Myrtus communis L*)

Le *Myrtus communis L.* ou le myrte est un arbuste éternel à feuilles persistantes et parfumé. De grandes activités ont été faites concernant les effets pharmaceutiques de cette usine.

L'huile essentielle de myrte est obtenue par entraînement à la vapeur d'eau à partir des feuilles séchées de *Myrtus communis L.* c'est un liquide mobile, limpide, jaune clair avec une odeur caractéristique

Des effets antifongiques et antibactériens étudiés apparenté d'huile essentielle du myrte dans un autre recherche également, l'effet et l'activité antibactériens et antioxydants de stérilisation de cette usine a été examinés. La composition chimique d'huile essentielle de feuille de myrte appartenant aux différentes régions et moissonnée à différentes périodes a été largement étudié, Les résultats de cette recherche prouvent que le α -pinène, le cineol, β , et le linalol, ont consacré les plus grands pour cent d'ingrédients d'huile essentielle (tableau 6) [47, 48].

Tableau 6 : Composition chimique d'huiles essentielles du *Myrtus communis L* dans Gilane Gharb [48].

Row	Volatile compound	Retention index	% Composition
1	α -Thujene	932	0.54
2	α-Pinene	942	27.87
3	Camphene	954	0.15
4	β -Pinene	981	0.88
5	δ -3-Carene	1013	0.63
6	β -Myrcene	994	0.3
7	α -Phellandrene	1007	0.14
8	α -Terpinene	1029	0.13
9	1,8-Cineole	1040	20.15
10	β -Ocimene	1055	0.13
11	γ -Terpinene	1064	0.59
12	α -Terpinolene	1088	0.41
13	Linalool	1108	10.26
14	4-Terpineol	1182	0.67
15	α -Terpineol	1197	7.64
16	2,6-Octadien	1233	0.31
17	Linalyl Acetate	1262	6.17
18	trans-Pinocarveol	1304	0.13
19	α -Terpinyl acetate	1356	4.04
20	Neryl acetate	1368	0.23
21	Geranyl acetate	1386	4.87
22	Methyl eugenol	1410	1.48
23	trans-Caryophyllene	1429	1.57
24	α -Humulene	1464	1.35
25	Caryophyllene oxide	1597	1.57
Identified compounds			92.21

➤ Romarin (*Rosmarinus officinalis L*)

Rosmarinus officinalis L, possède plusieurs activités thérapeutiques: cholagogue, antispasmodique, emménagogue. Grâce à certains composants (carnosol, rosmaridiphénol, rosmanol et acide rosmarinique). L'huile essentielle de romarin a fait l'objet de nombreuses études répertoriées par Lawrence. Diverses compositions ont été décrites en fonction des constituants majoritaires, à savoir : (i) cinéole supérieur à 40% (Maroc, Tunisie, Turquie, Grèce, Yougoslavie, Italie, France), (ii) α -pinène, 1,8-cinéole et camphre en proportions voisines (Espagne, France, Italie, Grèce, Bulgarie), (iii) myrcène à une teneur élevée de (Espagne, Portugal, Argentine), (iv) camphre, cinéole, bornéol (Cuba), (v) cinéole, bornéol, p-cymène (Turquie), (vi) α -pinène, verbénone, acétate de bornyle (Corse, Sardaigne). L'huile essentielle de romarin d'Algérie a également fait l'objet de quelques études. Ainsi, le romarin de la région de Bibans (Alger) est riche en 1,8-cinéole et il contient également du camphre et de l' α -pinène, La composition de ce romarin varie manifestement en fonction du cycle végétatif de la plante (tableau 7) [49].

Tableau 7: Composition chimique d'huile essentielle de romarin (*Rosmarinus officinalis L*) [49].

Constituant	Romarin cultivé (%)	Romarin sauvage(%)
α -thujène	-	1.3
α -Pinène	12.6	23.1
Camphène	2.9	4.6
Verbénène	1	0.2
β -pinène	1.3	12.2
Myrcène	1.2	4.5
Δ -3-carène	2.1	-
α -terpinène	0.4	0.7
p-cymène	2.4	1.9
Limonène	4	3.2
cinéole	11.8	5
β -phellandrène	-	0.5
δ -terpinène	0.2	1.1
Sabinène hydrate trans	0.1	0.3
terpinolène	0.4	0.5
linalol	5.9	1.2
chrysanthenone	0.7	-
Camphre	13.8	14.5
bornéol	10.1	-

➤ Thym (*T. algeriensis*)

Les huiles essentielles de thym sont largement utilisées comme agents antiseptiques dans plusieurs domaines pharmaceutiques et comme aromatisants pour de nombreux types de produits alimentaires. Le genre *Thymus* englobe de nombreuses espèces et variétés et la composition chimique de leurs huiles essentielles a été étudiée depuis longtemps. Les huiles essentielles de plusieurs espèces de thym ont déjà prouvé leurs propriétés antibactériennes et antifongiques

Les rendements moyens en huiles essentielles ont été calculés en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante. Les échantillons de *T. ciliatus* ont fourni un taux d'environ 1,2 % \pm 0,05 plus élevé que celui obtenu à partir de *T. algeriensis*, qui est de 0,3 % \pm 0,07. Ce dernier taux est plus faible par rapport à celui obtenu à partir de *T. algeriensis* de l'Algérie et qui est de 1,13 %. Les analyses chromatographiques des huiles essentielles ont permis d'identifier 15 composés qui représentent environ 97,41 % pour *T. ciliatus*, contre 48 composés (98,87 %) pour *T. algeriensis* (Tableau 8). La teneur et la nature des composés majoritaires varient considérablement d'un échantillon à l'autre en fonction de l'origine des plantes : thymol (0,3-29,3 %), carvacrol (0,4-21,7 %), acétate d' α -terpényle (0-42,9 %), acétate de géranyle (0-21,7 %), butyrate de géranyle (0-26,7 %), camphre (0,4-28,4 %) et bornéol (0,1-31,6 %). C'est le cas aussi pour *T. ciliatus* de l'Algérie [50].

Tableau 8 : Composition chimique des huiles essentielles de *thymus algeriensis* et *thymus ciliatus* [50].

N°	IK	Composés	Ta Aire %	Tc Aire %	N°	IK	Composés	Ta Aire %	Tc Aire %
1	926	tricyclène	0,60	-	26	1156	isobornéol	0,06	-
2	931	α -thujène	9,64	0,64	27	1165	bornéol	2,53	-
3	939	α -pinène	20,50	0,35	28	1177	terpin-4-ol	0,48	0,5
4	953	camphène	0,07	-	29	1189	α -terpinéol	0,44	-
5	967	verbenène	1,24	-	30	1204	verbenone	0,08	-
6	976	sabinène	3,84	0,56	31	1235	thymol méthyl éther	-	0,23
7	978	1-octène-3-ol	0,06	-	32	1282	α -terpin-7-al	0,18	-
8	980	β -pinène	8,02	-	33	1290	thymol	0,15	44,2
9	1001	δ -2-carène	0,06	-	34	1298	carvacrol	-	2,4
10	1011	δ -3-carène	0,16	3,1	35	1376	α -copatène	0,40	-
11	1018	α -terpinène	0,48	12,3	36	1384	β -bourbonène	0,25	-
12	1026	p-cymène	-	0,47	37	1390	β -cubebène	0,20	-
13	1031	limonène	4,85	-	38	1404	Z-caryophyllène	0,12	-
14	1033	1,8-cinéole	7,69	2,63	39	1418	E-caryophyllène	0,30	-
15	1040	β -Z-ocimène	0,17	-	40	1461	allo-aromadandréne	0,09	-
16	1050	β -E-ocimène	1,90	25,8	41	1480	germacrène D	2,18	-
17	1062	γ -terpinène	0,51	0,74	42	1504	α -Z-bisabolène	0,43	-
18	1068	cis-hydrate-sabinène	0,56	-	43	1509	β -bisabolène	0,18	-
19	1082	méta-cymène	0,12	-	44	1524	δ -cadinène	0,27	-
20	1087	fenchone	0,23	-	45	1538	α -cadinène	0,13	-
21	1098	linalol	0,92	3,24	46	1574	germacrène D-4-ol	0,17	-
22	1109	6-camphénol	0,11	-	47	1581	oxyde de caryophyllène	0,05	0,25
23	1125	α -campholénal	0,17	-	48	1592	longibornéol	0,06	-
24	1139	trans-pinoarvéol	0,10	-	49	1653	α -cadinol	0,05	-
25	1143	camphre	27,70	-	50	1679	acétate de longibornéol	0,06	-
					51	1700	acétate de caryophyllène	0,31	-
Total								98,87	97,41

IK : indices de Kováts — Kováts indices ; Ta : *Thymus algeriensis* ; Tc : *Thymus ciliatus* ; - : absence — absence.

➤ Zeste d'orange (*Citrus*)

L'huile essentielle d'orange est composée à plus de 95% de limonène (C₁₀H₁₆) (tableau 9). Elle a un aspect huileux mobile, est de couleur jaune orangé et a la même odeur caractéristique douce et fruité de la pelure d'orange. Elle a des propriétés sédatives, calmantes, digestives et bactéricides. Elle est aussi recommandée pour l'insomnie des enfants et des adultes, les palpitations et les spasmes cardiaques, les maux de ventre des nourrissons et les coliques, en plus des dermatoses et autres problèmes cutanés. L'huile essentielle d'orange a une densité d'environ 0,845 à 0,860, un pouvoir rotatoire de +94° à +99° et un indice de réfraction de 1,470 à 1,476. De plus elle est principalement composée des chimiotypes16 suivants : Aldéhyde, Géraniol, Linalool, Citral, Citronellal, Terpinéol, Décanal [51].

Tableau 9: Compositions chimiques, composés groupés, fractions oxygénées, et rendements d'huiles essentielles obtenues par les extractions MAD et HD à partir des peaux d'orange fraîches [52].

No.	Compounds	RI	MAD (%)	HD (%)	Method of identification
	Monoterpene hydrocarbons		85.7	89.8	
1	α -Pinene	918	0.5	1.6	GC, GC-MS
2	Sabinene	961	1.2	1.2	GC, GC-MS
3	β -Pinene	983	2.4	2.7	GC, GC-MS
4	β -Myrcene	1003	4.3	5.3	GC, GC-MS
5	Limonene	1075	76.7	78.5	GC, GC-MS
6	Δ 3-Carene	1098	0.2	0.1	GC, GC-MS
7	γ -Terpinene	1099	0.3	0.2	GC, GC-MS
8	Terpinolene	1110	0.2	0.2	GC, GC-MS
	Oxygenated monoterpenes		7.0	4.8	
9	Linalool	1132	3.1	2.0	GC, GC-MS
10	<i>trans</i> -Limonene oxide	1144	0.3	0.1	GC, GC-MS
11	Citronellal	1159	0.4	0.3	GC, GC-MS
12	Terpin-4-ol	1178	0.3	0.5	GC, GC-MS
13	α -Terpineol	1192	0.8	0.4	GC, GC-MS
14	<i>trans</i> -Carveol	1217	0.2	0.3	GC, GC-MS
15	Nerol	1228	0.6	0.3	GC, GC-MS
16	Neral	1239	0.4	0.3	GC, GC-MS
17	Geraniol	1254	0.3	0.1	GC, GC-MS
18	Geranial	1268	0.5	0.5	GC, GC-MS
19	Perilla Alcohol	1284	0.1	0.0	GC, GC-MS
	Sesquiterpene hydrocarbons		1.0	1.3	
20	α -Copaene	1357	0.1	0.1	GC, GC-MS
21	β -Cubebene	1371	0.1	0.1	GC, GC-MS
22	β -Elemene	1373	0.1	0.1	GC, GC-MS
23	(<i>E</i>)-Caryophyllene	1391	0.2	0.2	GC, GC-MS

No.	Compounds	RI	MAD (%)	HD (%)	Method of identification
24	β -Gurjunene	1406	0.1	0.1	GC, GC-MS
25	(<i>E</i>)- β -Farnesene	1442	0.1	0.1	GC, GC-MS
26	Germacrene D	1465	0.1	0.1	GC, GC-MS
27	Valencene	1479	0.2	0.4	GC, GC-MS
28	δ -Cadinene	1513	0.1	0.2	GC, GC-MS
	Oxygenated sesquiterpenes		0.9	0.3	
29	β -Sinensal	1647	0.2	0.2	GC, GC-MS
30	α -Sinensal	1675	0.7	0.1	GC, GC-MS
	Other oxygenated compound		4.0	2.7	
31	1-Hexanol	852	0.2	0.0	GC, GC-MS
32	1-Octanol	1102	1.1	0.5	GC, GC-MS
33	<i>n</i> -Nonanal	1118	0.2	0.1	GC, GC-MS
34	Decanal	1210	1.9	1.7	GC, GC-MS
35	Octanol Acetate	1212	0.1	0.1	GC, GC-MS
36	1-Decanol	1266	0.3	0.0	GC, GC-MS

V.- 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 J. Kuligowski et al [53].

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 PLS différents ont été développés. L'utilisation de 16 mélanges synthétiques de substances à analyser dans le dichlorométhane, dans une gamme spectrale de $931,8 \text{ cm}^{-1}$ à $1252,3 \text{ cm}^{-1}$ pour la lécithine et de $911,4 \text{ cm}^{-1}$ à $1246,9 \text{ cm}^{-1}$ et $1695,3 \text{ cm}^{-1}$ à $1774,5 \text{ cm}^{-1}$ pour l'huile de soja. Sept produits du marché Espagnol avec des concentrations de lécithine entre 21,1% et 99,1% et les concentrations d'huile de soja entre 0% et 37,2% ont été analysés par la méthode proposée. Pour les échantillons dopés avec des quantités comprises entre 50 mg et 250 mg de lécithine et de soja, l'exactitude obtenue d'huile varie entre 98,0% et 102,1% et entre 93,6% et 102,0% avec une précision moyenne 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 [54].

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 origines 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 de produits alimentaires. Les spectres de transmission SPIR ont été obtenus directement à partir de fractions aliquotes d'échantillons stockés dans des flacons en verre 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 fixées pour chaque type d'huile. En raison des faibles différences observées dans les spectres proche infrarouge qui peut être lié à l'origine botanique et les résultats obtenus à partir de la comparaison du modèle de PLS, l'utilisation d'un modèle global de PLS est recommandé conduit à des erreurs de prédiction de 2.28% (v / v) de la détermination de PTG dans les huiles de friture.

➤ D'après Sergio Armenta et al [55].

Le but de ce travail était de développer une procédure de spectroscopie IRTF-ATR-PLS pour déterminer la concentration de composantes chimiques telles que le glucose, le fructose, le saccharose et d'éthanol pendant la fermentation de nectar d'ananas. Cette méthode de couplage fournie simultanément une bonne estimation pour les quatre analytes utilisés, ce qui permet d'obtenir une erreur quadratique moyenne de calibration (RMSEC) pour le glucose, le fructose, le saccharose et l'éthanol égale à 0.040, 0.021, 0.063 et 0.074% (v/v) respectivement, et une erreur relative de validation (2.9, 2.1, 2.6 et 3.6% (v/v) respectivement. Les résultats obtenus lors de cette étude ont été comparables avec ceux obtenues avec une méthode spectroscopique de référence (UV-Visible).

➤ D'après Zouhir Bouhsain et al [56].

Dans ce travail, une simple et rapide procédure d'analyse est proposé pour la détermination simultanée de paracétamol, acide acétylsalicylique et la caféine dans les produits pharmaceutiques par (PLS-IRTf). 14 bandes caractéristiques incluses dans l'intervalle de nombre d'onde 823 et 1775 cm^{-1} ont été utilisées pour la détermination des trois composés de l'étude. Le procédé implique le lavage des composés présents dans des formulations pharmaceutiques avec une solution à 10% d'éthanol dans le dichlorométhane (v / v)

et ce dans un bain d'eau à ultrasons pendant 20 min, suivie d'une filtration et l'introduction directe des solutions dans une cellule d'écoulement de liquide. Une calibration d'une série de huit mélanges de standard des trois composés testés, à deux niveaux de concentration, a été construite. L'analyse des échantillons réels et synthétiques par PLS-IRTF, donne des valeurs précises et exactes. En fournissant dans tous les cas des erreurs de précision inférieures à 5% et des résultats comparables à ceux obtenus par PLS-UV.

➤ D'après Y.B. Che Manet al [57].

Une combinaison de la spectroscopie IRTF avec ATR et la régression (PLS), a été employée pour détecter la présence du saindoux dans la formulation de chocolat. Les bandes spectrales liées au saindoux, au beurre de cacao et à leurs mélanges (s'étendant de 0% à 15% de saindoux en beurre de cacao) ont été enregistrées, interprétées et identifiées. Une approche semi-quantitative pour mesurer les pourcents de saindoux dans les mélanges sur la base des données spectrales à la région $4000-650\text{ cm}^{-1}$ a été proposé, en utilisant l'équation $y=0.9225x+0.5539$. Le coefficient de détermination (R^2) était 0,9872 avec une déviation standard de 1,305. En ce document, le potentiel de la spectroscopie d'IRTF comme outil analytique rapide pour la détermination quantitative du saindoux en particulier a été démontré en chocolat.

➤ D'après A. Rohman et al [58].

Cette étude a été visée pour développer une technique rapide et non destructive pour la détection et la quantification du porc en boulette de viande de bœuf en utilisant la spectroscopie infrarouge de transformée de Fourier (IRTF) et Régression des moindres carrées partielle (PLS). Les bandes spectrales liées à la graisse de porc (PF), la graisse de bœuf (FB) et leurs mélanges dans la formulation de boulette de viande ont été analysés, interprétés, et identifiés en les rapportant à ceux représentant au PF et au FB purs. Pour l'analyse quantitative, la régression de PLS a été employée pour développer un modèle de calibrage aux régions d'empreinte digitale sélectionnées de $1200-1000\text{ cm}^{-1}$. L'équation de la calibration obtenue pour la relation entre la valeur réelle de PF et les valeurs prédites par IRTF était $y=0.999x+0.004$, avec un coefficient de détermination (R^2) et l'erreur quadratique moyenne de calibration (RMSEC) sont 0,999 et 0,442, respectivement. Le modèle de calibrage de PLS a été plus tard employé pour la prévision des échantillons

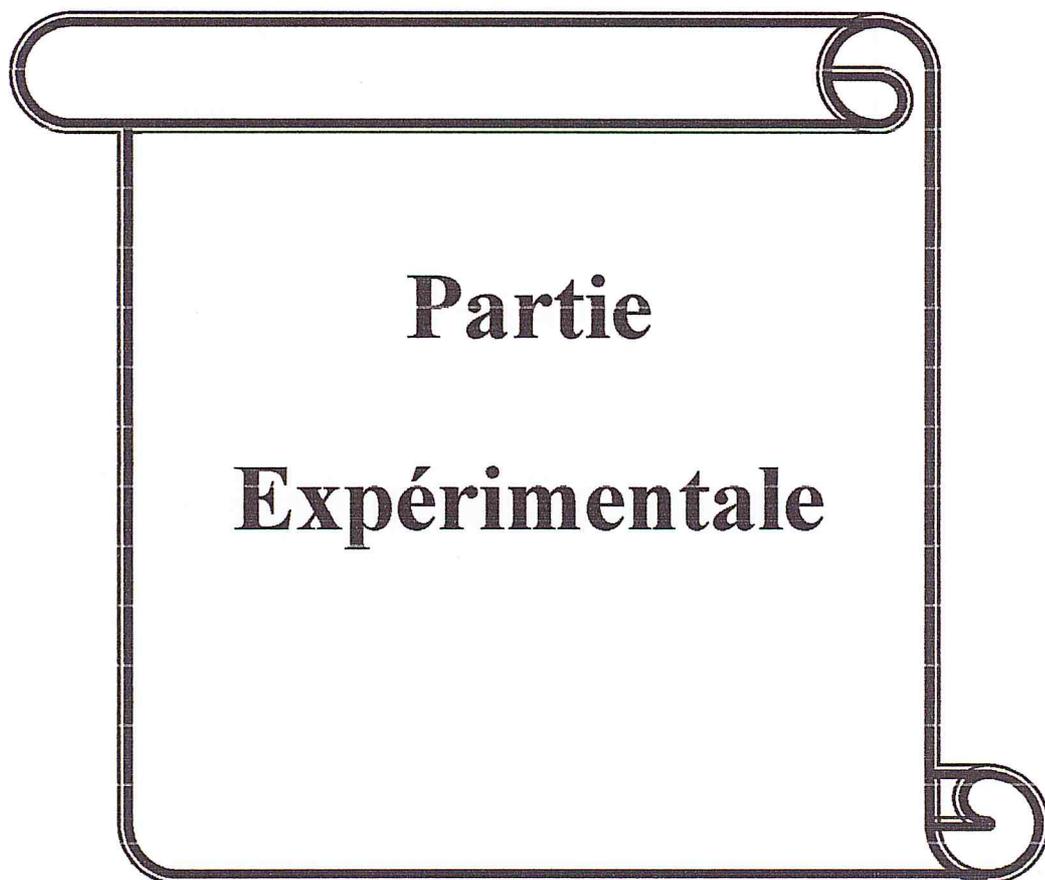
indépendants. En utilisant les échantillons de boulettes de viandes faites par laboratoire contenant les mélanges du FB et du PF. Utilisant 4 composants principaux, l'erreur quadratique moyenne de validation (RMSEV) est 0,742. Les résultats ont prouvé que la spectroscopie d'IRTF peut être employée pour la détection et la quantification du porc dans la formulation de boulette de viande de bœuf pour la vérification halal.

➤ Mémoire de Master Chimie de Substances Naturels « 2013-2014 » [59]

Le premier travail dans le domaine de la combinaison de la calibration PLS avec la spectroscopie IRTF a été réalisé au sein de notre équipe présenté par une étude comparative entre les deux modes de calibration monovariante et multivariante et ce dans le cadre d'un master en Chimie option : Chimie des Substances Naturels, pour mettre en évidence l'intérêt pratique du logiciel de calibration PLS ainsi la simplicité et la rapidité du modèle développé.

Pour établir le modèle de calibration multivariante, huit solutions étalons contenant les quatre analytes (thymol, eucalyptol, camphre et menthol) dans des proportions différentes sont utilisées.

Les résultats de la modélisation indiquent que le modèle PLS-FTIR est adéquat pour la détermination simultanée des quatre analytes en fournissant un coefficient de corrélation compris entre 1 et 0.995 et une précision d'analyse faible.



Partie

Expérimentale

I-Objectif

Après la mise en évidence de l'intérêt pratique, la simplicité et la rapidité de calibration multivariable moyennant la combinaison PLS-IRTF, le premier objectif de cette étude consiste à exploiter d'avantage les paramètres du logiciel pour la détermination simultanée de camphre, carvaone, thymol et limonène dans différentes huiles essentielles.

Le spectrophotomètre infrarouge Tensor- 27 dispose d'un modèle de calibration multivariable qui n'est exploitable que si les spectres des étalons présentent des pics séparés et spécifiques. Le deuxième objectif fixé à travers cette étude est d'utiliser une bande interférée et de tester la calibration en utilisant le potentiel qu'offre le spectre dérivé.

La présente étude est réalisée dans le laboratoire de chimie des substances naturelles du département de chimie et au laboratoire des plantes médicinales et aromatiques du département d'agronomie, Université de Blida 1.

II.- Matériel et méthodes

II.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 triglicinedeuteré DTGS à température ambiante, d'une source infrarouge moyen (4000-400 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 (figure 4).

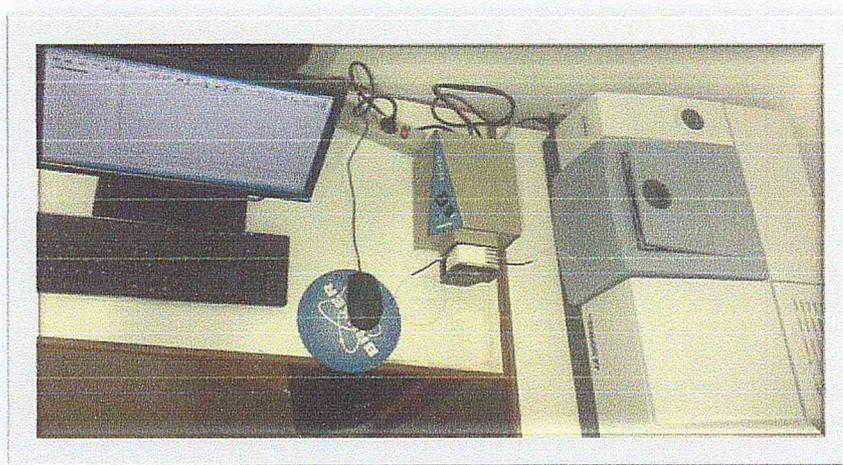


Figure 4 : Spectromètre IR à transformée de Fourier

Les fenêtres utilisées pour l'analyse de la phase liquide sont en chlorure de sodium (NaCl) avec une entretoise en téflon de 1 mm, Les tubes de connections sont en téflon avec un diamètre intérieur de 0.8 mm et le chargement est réalisé en employant des tubes de chlorure de polyvinyle de diamètre intérieur de 2.79 mm.

L'introduction des solutions se fait 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 organique est de réduire le temps d'analyse (15- 60 s).

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.

II.1.1-Spécificité du logiciel PLS (Quant1) et gammes d'intégration

L'utilisation du modèle de calibration PLS se fait à travers le logiciel Quant d'OPUS, ce dernier dispos de deux modèles Quant 1 et Quant 2.

Si les spectres des étalons présentent des pics séparés et spécifiques on fait appel au Quant 1, mais si les spectres sont exclusivement constitués de pics superposés, la méthode Quant 1 n'est pas indiquée. Dans ce cas, il faut utiliser le logiciel intégré Quant 2 d'OPUS. Le spectrophotomètre Tensor- 27, que nous avons utilisé, dispose de Quant 1 seulement ce qui impose dans cette étude l'identification des bandes séparées pour chaque étalon.

L'assistant OPUS nous permet de sélectionner une gamme d'intégration pour chacun des pics du spectre IR, dont la hauteur ou l'aire (intégrale) servira au calibrage. Le logiciel dispos de 19 modes (figure 5).

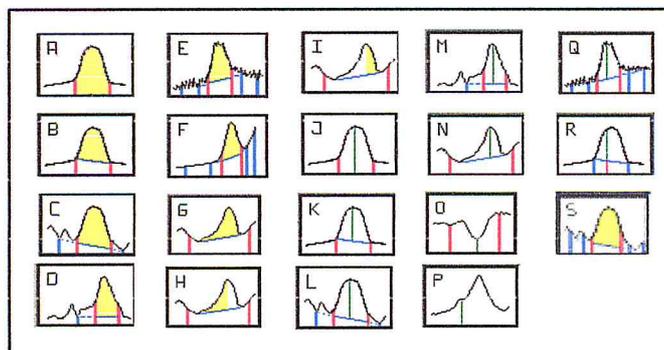


Figure 5 : Gammes d'intégration

II.2.- Réactifs

Tous les réactifs utilisés dans cette étude ; le dichlorométhane stabilisé avec l'amylène, l'éther d'éthylique et le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) sont de grade analytique.

II.3.- Choix des étalons

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes constitués de plusieurs dizaines de composés, principalement terpéniques.

Afin de développer un modèle de calibration multivariable et multicomposé on a choisi une série de quatre (04) monoterpènes, cycliques qui peuvent être présents dans les huiles essentielles à savoir : le camphre, la carvone, le thymol et le limonène.

II.4.- Procédure générale

Afin d'exploiter d'avantage les paramètres du logiciel Quant 1, pour la détermination simultanée de camphre, carvone, thymol et limonène dans différentes huiles essentielles, nous avons suivi les étapes montrées dans la figure 6.

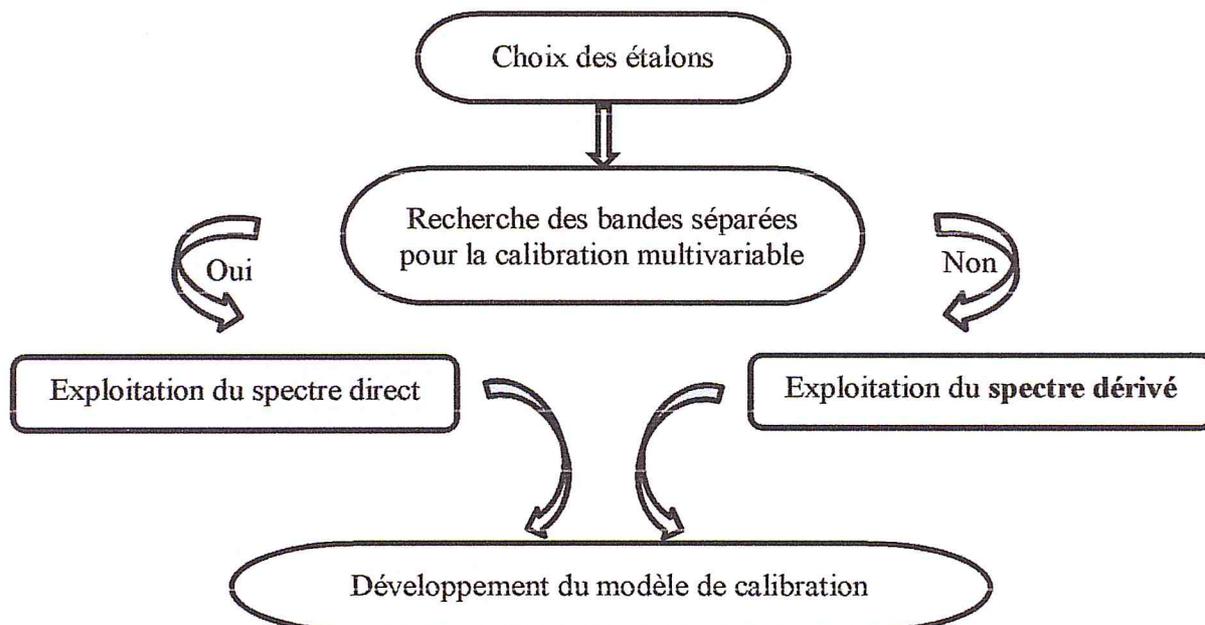


Figure 6 : Etapes suivies pour le développement du modèle de calibration

III.- Résultats et discussion

III.1.- Identification des bandes séparées des étalons

Pour identifier les bandes séparées de chaque étalon, les spectres IRTF de chaque monoterpène cyclique (Camphre, Carvone, Thymol et Limonène) préparés directement dans le dichlorométhane (CH_2Cl_2) avec une concentration de 4 mg/ml sont obtenus.

Les fenêtres utilisées dans cette partie pour l'analyse de la phase liquide sont en fluorure de baryum (BaF_2) avec une entretoise en téflon de chemin optique de 0.1 mm et l'acquisition des spectres a été effectuée avec une résolution de 4 cm^{-1} et un nombre de scans égal à 10 spectres.

La figure 7 présente les spectres IRTF des quatre étalons Camphre (a), Carvone (b), Thymol (c) et Limonène (d).

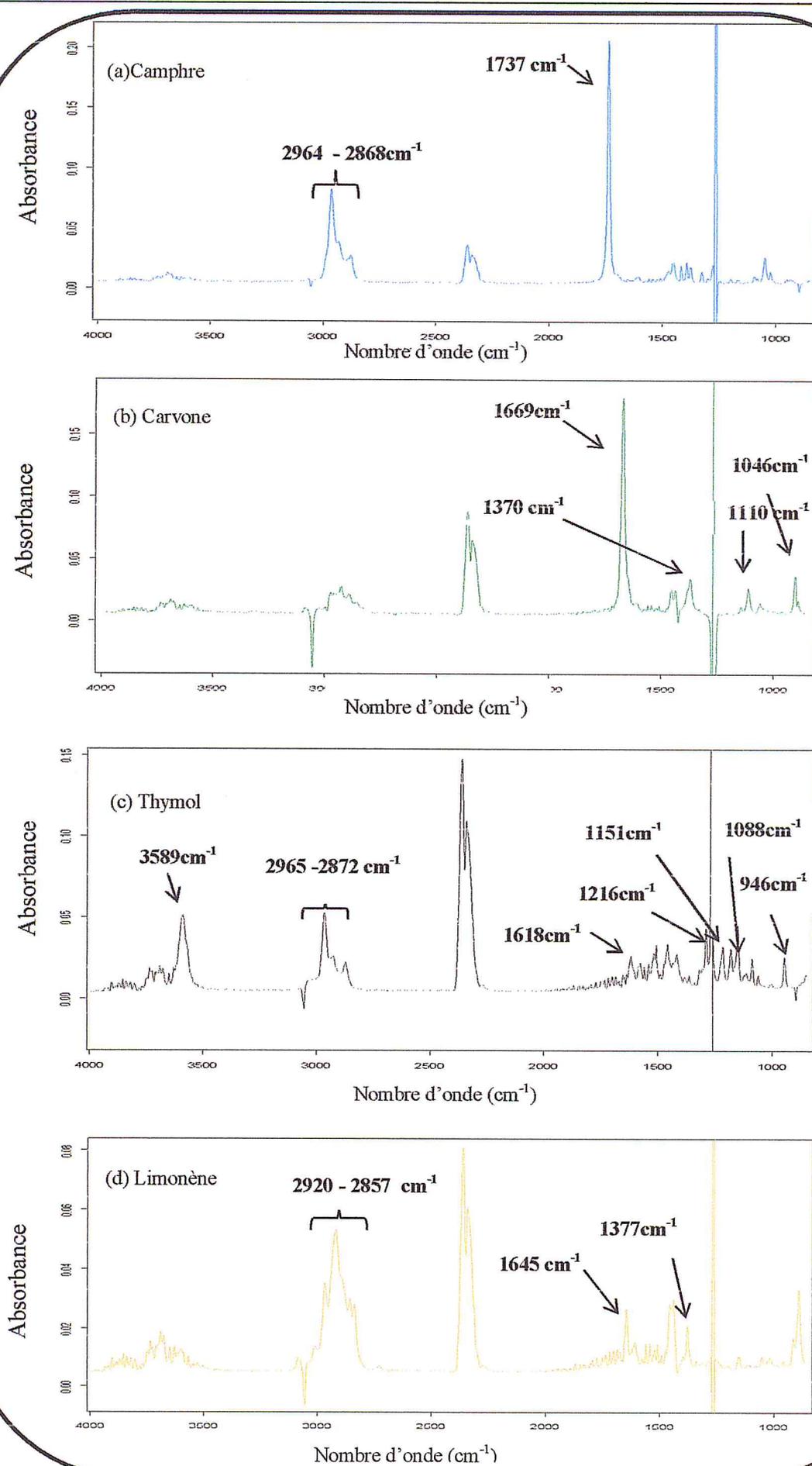


Figure 7 : Spectres IRTF d'absorbance de chaque monoterpène (4 mg/ml) : (a) Camphre, (b) Carvone, (c) Thymol et (d) Limonène préparés directement dans le CH_2Cl_2 .

Le spectre de camphre (a) présente les plus importantes bandes d'absorbance dans la région entre 2964 et 2868 cm^{-1} caractéristiques des groupes CH_2 et CH_3 , et une bande très intense située à 1737 cm^{-1} caractéristique du groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}$ d'une cétone.

Le spectre de la figure (b) montre une bande intense 1669 cm^{-1} liée au groupement carbonyle $\text{C}=\text{O}$, une bande à 1370 cm^{-1} présentant la déformation symétrique des groupes CH_2 et CH_3 ainsi que les bandes à 1110 et 1046 cm^{-1} caractéristiques aux vibrations du groupement C-C.

Les bandes d'absorbance de thymol, sont situées à 3589 cm^{-1} bande d'élongation de la liaison O-H, ainsi que les bandes intenses dans la région entre 2965 et 2872 cm^{-1} à liées aux groupements CH_2 et CH_3 , on peut constater la présence d'une bande vers 1618 cm^{-1} caractéristique de $\text{C}=\text{C}$ aromatiques. Des bandes vers 1216 cm^{-1} et 1151 cm^{-1} caractéristique de la fonction C-O d'élongation. Le thymol présent également la bande 1088 cm^{-1} correspondant à C-OH d'un l'alcool, et la bande de 946 cm^{-1} caractéristique de la fonction isopropyl.

L'analyse du spectre (d) du limonène montre des bandes situées à 2920 et 2857 cm^{-1} liées aux vibrations des groupements CH_2 et CH_3 , et une bande à 1645 cm^{-1} correspondant à la vibration d'allongement des liaisons $\text{C}=\text{C}$. La bande qui apparait à 1377 cm^{-1} est caractéristique des groupes CH_2 et CH_3 .

Il y a lieu de noter que les bandes qui apparaissent vers 2400 cm^{-1} sont liées à la présence de CO_2 dans le compartiment de mesures.

Pour trouver les bandes séparées et spécifiques de chaque étalon, les spectres IRTF des quatre composés sont groupés dans la même fenêtre spectrale comme l'illustre la figure 8.

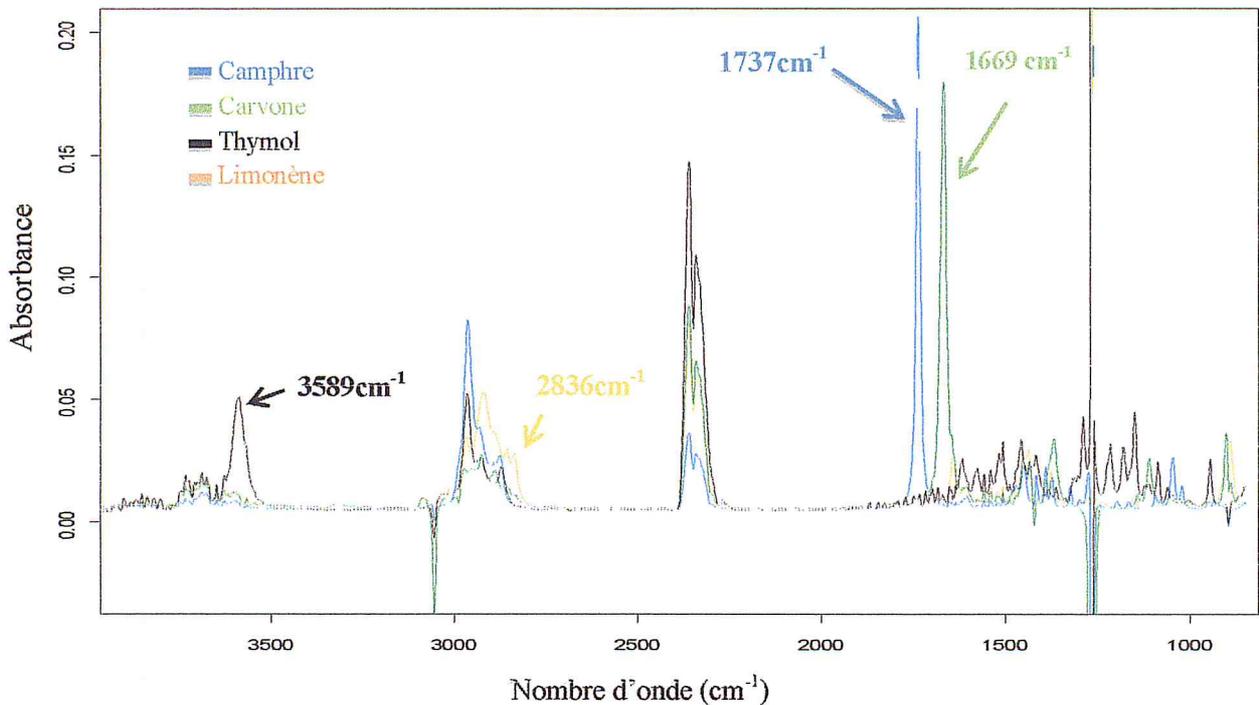


Figure 8 : Spectres IRTF d'absorbance d'un mélange de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène (4 mg/ml)

Les spectres des quatre étalons groupés montrent la présence des bandes séparées pour le camphre, la carvone, le thymol à 1737, 1669 et 3589 cm^{-1} respectivement alors que les bandes de limonène sont interférées le long du spectre par les bandes des trois autres étalons à l'exception du côté droit de la bande à 2836 cm^{-1} . Pour éviter cette interférence, on fait appel aux spectres dérivés pour améliorer la résolution des bandes d'absorption très voisines qui recouvre dans un spectre d'ordre zéro.

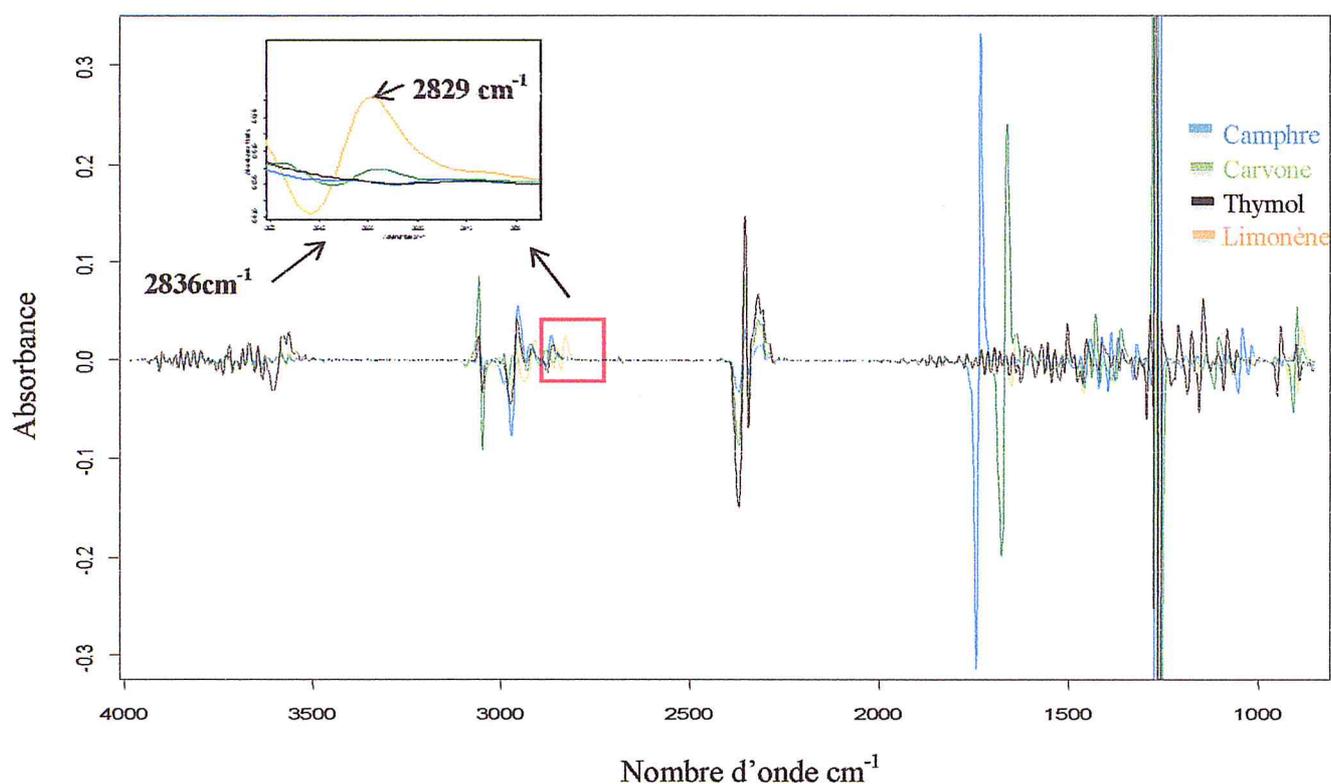


Figure 9 : Spectres IRTF du premier dérivé de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène

L'analyse des spectres dérivés des quatre étalons (figure 9) dans le domaine spectral entre 4000-850 cm^{-1} a révélé que seulement le volet droit à 2829 cm^{-1} de la bande d'absorbance à 2836 cm^{-1} est faiblement interféré par le camphre pourrait être exploitée pour le dosage simultané du limonène en présence des trois autres étalons par PLS-IRTF.

III.1.1.-Sensibilité des différents modes d'intégration

Nous avons testé à travers cette étude la sensibilité des différentes modes d'intégration en considérant aussi bien la hauteur que l'aire des pics et ce, au bandes spécifiques de chaque étalon.

Tableau 10 : Sensibilité des différents modes d'intégration aux bandes séparés de chaque étalon de concentration 4 mg/ml.

Spectre d'ordre zéro					Spectre du 1 ^{er} dérivé
Etalon	Camphre	Carvone	Thymol	Limonène	Limonène
Ligne de base (cm ⁻¹)	LG : 1763	LG : 1713	LG : 3630	LG : 2840	LG : 2836
	LD : 1717	LD : 1594	LD : 3530	LD : 2800	LD : 2800
	Max : 1737	Max : 1669	Max : 3589	Max : 2836	Max : 2829
Les modes d'intégration	Résultat d'intégration				
A (aire de pic)	3,4195	5,2457	2,6838	-	0,3935
B (aire de pic)	2,6802	3,9759	1,3320	-	0,2914
G (aire de pic)	2,6802	3,9879	1,4016	-	0,2914
H (aire de pic)	1,4090	1,8791	0,6486	-	0,1152
I (aire de pic)	1,2712	2,1088	0,7529	-0,0822	0,1762
J (intensité)	0,2062	0,1795	0,0513	-	0,0258
K (intensité)	0,1898	0,1688	0,0369	-	0,0228
N (intensité)	0,1898	0,1689	0,0377	-	0,0228
R (intensité)	0,1898	0,1688	0,0369	-	0,0228

Il nous semble judicieux d'interpréter en premier position les modes d'intégration utilisés dans cette étude (voir annexe).

Comme l'illustre le tableau 10, les résultats d'intégration obtenus sont logiques, du fait que la sensibilité est plus importante, ou bien, lorsque l'intégration est limitée par l'axe des X et non par une ligne de base locale reliant les deux fréquences paramétriques (en comparant A avec B et G et J avec K, N et R), ou lorsque l'intégration considère l'aire totale du pic au lieu de la moitié (en comparant B avec H et I). La similitude des valeurs d'intégration des aires pour les modes B et G ou des hauteurs pour les modes K, N et R indique que les bandes considérées sont parfaitement séparées, et que la ligne de base est bien stabilisée avec un bruit de fond réduit.

Dans cette partie de notre étude nous avons choisi de travailler avec les modes d'intégrations corrigés avec une ligne de base adéquate et donc le mode R est choisi pour le camphre, carvone, thymo α l, le mode I pour le limonène dans le cas de la considération du spectre d'ordre zéro et le mode B dans le cas de la considération du spectre de la 1^{ère} dérivé.

III.2.- préparation de la matrice de calibration

Le logiciel intégré Quant 1 d'OPUS nous permet d'analyser la concentration des composantes chimiques contenues dans l'échantillon. Le calcul des valeurs de concentration présuppose en tout état de cause un calibrage préalable.

Pour procéder au calibrage à l'aide des quantités de composantes connues et à l'aide des spectres des échantillons de calibrage, nous devons disposer d'un jeu d'échantillons. Chacun de ses derniers doit contenir une concentration connue et différente, de la composante qui nous intéresse. Pour ce faire, on apparie à chacune des composantes une bande (un pic) spécifique du spectre.

Dans cette étude, dix solutions étalons ont été préparées afin de construire le modèle. Les limites inférieures et supérieures des concentrations considérées dans la calibration ont été sélectionnées par rapport à l'intensité donnée par les gammes d'intégration (tableau 10) en respectant la limite de détection IRTF.

Au domaine de concentration linéaire compris entre 0,2 et 6 mg/ml, les dix (10) solutions étalons ont été préparées à partir des quatre solutions mères de concentration de 10 mg/ml.

Les compositions des dix solutions étalon en termes de concentrations et pourcentage, sont regroupées dans le tableau 11. Il y a lieu de noter que la combinaison des pourcentages des composés formant le mélange a été établie en considérant différentes possibilités. (i) produit majoritaire dans le mélange (solution étalons 2, 3, 4 et 5), (ii) deux produits majoritaires dans le mélange (solution étalons 1, 6, 7 et 8), (iii) l'existence des composés avec la même proportion (solution étalon 9).

Tableau 11: Composition des solutions étalons (matrice de la calibration)

Camphre				Carvone			Thymol			Limonène		
Solution étalon	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%
01	0,2	0,1	7,14	0,2	0,1	7,14	1,2	0,6	42,85	1,2	0,6	42,85
02	0,2	0,1	2,33	6,0	3,0	69,76	1,2	0,6	13,95	1,2	0,6	13,95
03	6,0	3,0	53,57	0,2	0,1	3,52	1,2	0,6	21,42	1,2	0,6	21,42
04	0,2	0,1	2,63	0,2	0,1	2,63	6,0	3,0	78,95	1,2	0,6	15,79
05	0,2	0,1	2,63	0,2	0,1	2,63	1,2	0,6	15,79	6,0	3,0	78,95
06	0,2	0,1	2,38	0,2	0,1	2,38	4,0	2,0	47,62	4,0	2,0	47,62
07	3,0	1,5	35,71	3,0	1,5	35,71	1,2	0,6	14,29	1,2	0,6	14,29
08	0,2	0,1	2,70	3,0	1,5	40,54	3,0	1,5	40,54	1,2	0,6	16,22
09	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25
10	0,2	0,1	10	0,2	0,1	10	0,8	0,4	40	0,8	0,4	40

C : Concentration de l'étalon dans l'échantillon synthétique en mg/ml, P : Pourcentage % d'un étalon dans l'échantillon synthétique, V : Volume prélevé de la solution mère en ml, (un volume finale de 5 ml est considéré).

III.2.1- Paramètres analytiques fournis par le logiciel

Le logiciel que nous avons utilisé présente les résultats sous forme d'une représentation graphique ou sous forme de tableau.

La figure 10 montre les représentations graphiques des paramètres analytiques. Les diagrammes (A) illustre l'adaptation aux valeurs paramétrées, c.à.d. la corrélation entre la valeur calculée et réelle, (B) représente la différence par rapport aux valeurs paramétrées, c.à.d. la dispersion de l'erreur absolue par rapport à la valeur réelle et le (C) qui montrent la corrélation entre les valeurs paramétrées (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 calibrage et de décaler d'éventuels dérivés.

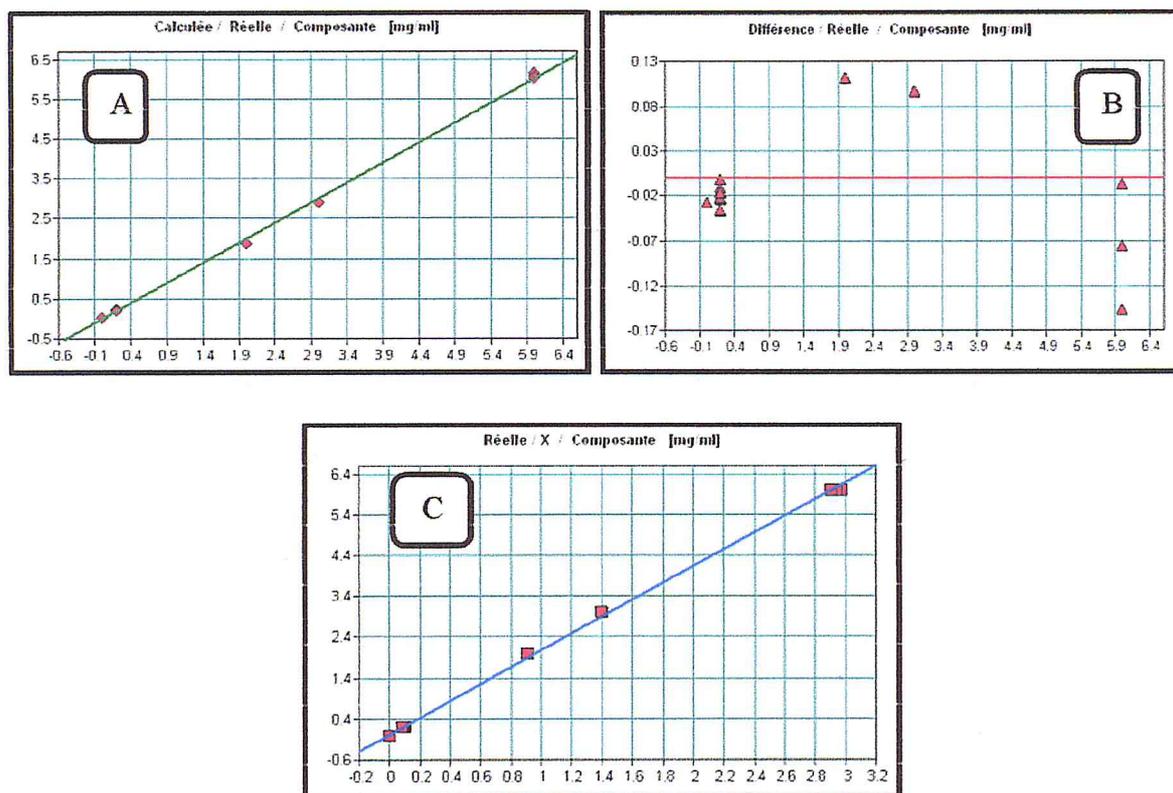


Figure 10 : Représentations graphiques des paramètres analytiques

Le logiciel permet aussi d'établir différents modèles de régression pour améliorer la qualité de la calibration à savoir le modèle linéaire, cubique, ou quadratique. Dans cette étude nous avons vérifié que les trois modèles de régression donnent les mêmes résultats.

Le tableau (12) fournit par le logiciel, suite à un simple clic, résume les résultats de calibrage pour chaque composante. Chaque table contient toute les informations relatives à la calibration à savoir, le type de régression, le mode d'intégration, la droite d'étalonnage, le coefficient de corrélation et la précision de l'analyse (sigma) dans un domaine de confiance

de 68 % ainsi que toutes les données relatives à la composante choisie de la solution de calibrage à savoir 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.

Tableau 12 : Paramètres analytiques fournis par le logiciel

Le tableau suivant illustre les caractéristiques analytiques que fournit le logiciel

<p>COMPOSANTE Régression : linéaire, cubique ou quadratique. L'intégration : mode utilisé (de A à S voir annexe). Droite d'étalonnage : $Y = aX + b$ $\left\{ \begin{array}{l} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{array} \right.$ Valeur de coefficient de corrélation : r Valeur de Sigma : ($\sim\%$) 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%). ($x \pm \delta$) : Valeur moyenne \pm déviation standard pour ($n=3$), trois valeurs dépendantes. Différence : Valeur réelle – valeur calculée (valeur de prédiction)</p>				
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)

III.2.2.- Paramètres analytiques de chaque composante dans le mélange

Les paramètres analytiques du Camphre, Carvone et Limonène présentés par le tableau 13, 14 et 15 dans cet ordre.

Ces résultats montrent un bon coefficient de corrélation et une erreur d'analyse inférieure à 1 ce qui confirme une bonne qualité de calibrage.

Tableau 13 : Paramètres analytiques de Camphre

CAMPBRE

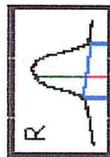
Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1737 (1763-1717) cm⁻¹

Droite d'étalonnage : Y = 0,015752 + 21,964 X

{ Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).

{ X : Valeur d'intégration



Coefficient de corrélation (r) : 0,9998

Sigma = 0,0224 (~ 2,24%) : 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±δ) : 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±δ)	Différence (x±δ)	Valeur d'intégration (x±δ)
Solution étalon 1	0,2	0,2342 ± 0,0008	-0,0342 ± 0,0008	0,0099 ± 0,0000
Solution étalon 2	0,2	0,2178 ± 0,0014	-0,0178 ± 0,0014	0,0092 ± 0,0001
Solution étalon 3	6,0	5,9970 ± 0,0043	0,0029 ± 0,0042	0,2723 ± 0,0002
Solution étalon 4	0,2	0,2101 ± 0,0011	-0,0101 ± 0,0011	0,0088 ± 0,0000
Solution étalon 5	0,2	0,1638 ± 0,0915	-0,0071 ± 0,0079	0,0069 ± 0,0039
Solution étalon 6	0,2	0,1904 ± 0,0012	0,0096 ± 0,0011	0,0080 ± 0,0001
Solution étalon 7	3,0	3,0267 ± 0,0025	-0,0268 ± 0,0025	0,1371 ± 0,0001
Solution étalon 8	0,2	0,1992 ± 0,0009	0,0008 ± 0,0009	0,0084 ± 0,0000
Solution étalon 9	2,0	1,962 ± 0,0026	0,0382 ± 0,0024	0,0886 ± 0,0001
Solution étalon 10	0,2	0,1799 ± 0,0010	0,0201 ± 0,0010	0,0075 ± 0,0000

Condition expérimentale : Fenêtres BaF₂ ; Chemin optique : 0.1mm/10 scans

Tableau 14 : Paramètres analytiques du Carvone

CARVONE

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1669 (1713-1594) cm⁻¹

Droite d'étalonnage : Y = -0,0065688 + 24,666 X

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml)} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$


Coefficient de corrélation (r) : 0,9999

Sigma = 0,0663 (~ 6,63%) : 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±δ) : 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±δ)	Différence (x±δ)	Valeur d'intégration (x±δ)
Solution étalon 1	0,2	0,1884±0,0028	0,0116±0,0028	0,0079±0,0001
Solution étalon 2	6,0	5,9700±0,0056	0,0298±0,0053	0,2423±0,0002
Solution étalon 3	0,2	0,0327±0,0003	0,1673±0,0003	0,0016±0,0000
Solution étalon 4	0,2	0,1561±0,0013	0,0439±0,0013	0,0066±0,0001
Solution étalon 5	0,2	0,2547±0,0040	-0,0547±0,0040	0,0106±0,0002
Solution étalon 6	0,2	0,1997±0,0022	0,0003±0,0022	0,0084±0,0001
Solution étalon 7	3,0	3,0067±0,0021	-0,0069±0,0022	0,1222±0,0001
Solution étalon 8	3,0	3,0283±0,0071	-0,0280±0,0070	0,1230±0,0003
Solution étalon 9	2,0	2,0260±0,0026	-0,0261±0,0022	0,0824±0,0001
Solution étalon 10	0,2	0,2530±0,0041	-0,0530±0,0040	0,0105±0,0002

Condition expérimentale : Fenêtres BaF₂ ; Chemin optique : 0.1mm/10 scans

Tableau 15 : Paramètres analytiques de Thymol

THYMOL

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 3589 (3630-3530)

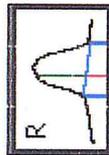
Droite d'étalonnage : $Y = -0,048453 + 107,45 X$

{	Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).
	X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0,9999

Sigma = 0,0468 (~ 4,68%) : 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%). $(x \pm \delta)$: 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 ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	1,2	1,2360 \pm 0,0061	-0,0360 \pm 0,0059	0,0120 \pm 0,0001
Solution étalon 2	1,2	1,1790 \pm 0,0030	0,0212 \pm 0,0032	0,0114 \pm 0,0000
Solution étalon 3	1,2	1,2087 \pm 0,0040	-0,0088 \pm 0,0044	0,0117 \pm 0,0000
Solution étalon 4	6,0	5,9740 \pm 0,0135	0,0260 \pm 0,0134	0,0561 \pm 0,0001
Solution étalon 5	1,2	1,2633 \pm 0,0310	-0,0632 \pm 0,0308	0,0122 \pm 0,0003
Solution étalon 6	4,0	4,0303 \pm 0,0032	-0,0305 \pm 0,0034	0,0380 \pm 0,0000
Solution étalon 7	1,2	1,2333 \pm 0,0021	-0,0334 \pm 0,0023	0,0119 \pm 0,0000
Solution étalon 8	3,0	2,9743 \pm 0,0112	0,0253 \pm 0,0112	0,0281 \pm 0,0001
Solution étalon 9	2,0	1,9557 \pm 0,0021	0,0444 \pm 0,0018	0,0187 \pm 0,0000
Solution étalon 10	0,8	0,8393 \pm 0,0121	-0,0393 \pm 0,0121	0,0083 \pm 0,0001

Condition expérimentale : Fenêtres BaF₂ ; Chemin optique : 0.1mm/10 scans

III.2.3.-Paramètres analytique de limonène dans le mélange

Pour analyser le limonène en présence des trois autres étalons deux modèles de calibrage ont été utilisé (voir § 01 page 31). Les résultats du tableau 16 montrent les paramètres analytiques de calibrage de limonène en considérant le spectre d'ordre zéro mode I et les résultats du tableau 17 montrent les paramètres analytiques de calibrage de limonène en considérant le spectre de la 1^{ère} dérivé et le mode B.

Les résultats présentés sur les tableaux 16 et 17 montrent un bon coefficient de corrélation et une erreur d'analyse inférieur à 1 ce qui confirme une bonne qualité de calibrage aussi bien pour le mode d'intégration I du spectre d'ordre zéro ou le mode B du spectre de la première dérivé. Suite à ces résultats, on peut conclure que les deux modèles développés sont adéquats pour la détermination du limonène en évitant l'interférence provoquée par la présence des trois autres étalons notamment la carvone.

Tableau 16 : Paramètres analytique de Limonène en considérant le spectre d'ordre zéro mode I

LIMONENE

Régression : linéaire

L'intégration : mode I : 2836 (2840-2800)

Droite d'étalonnage : $Y = +0,58135 - 49,09 X$

{ Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).
X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0,9943

Sigma = 0,175 (~17,5%) : 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%).

($x \pm \delta$) : 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 ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	1,2	1,1840 \pm 0,0089	0,0161 \pm 0,0090	-0,0123 \pm 0,0002
Solution étalon 2	1,2	0,9553 \pm 0,0154	0,2447 \pm 0,0154	-0,0076 \pm 0,0003
Solution étalon 3	1,2	1,1803 \pm 0,0602	0,0197 \pm 0,0606	-0,0122 \pm 0,0012
Solution étalon 4	1,2	1,5710 \pm 0,0324	-0,3709 \pm 0,0325	-0,0202 \pm 0,0007
Solution étalon 5	6,0	5,8320 \pm 0,1306	0,1681 \pm 0,1308	-0,1070 \pm 0,0027
Solution étalon 6	4,0	4,1757 \pm 0,0116	-0,1758 \pm 0,0117	-0,0732 \pm 0,0002
Solution étalon 7	1,2	1,1327 \pm 0,0225	0,0676 \pm 0,0223	-0,0112 \pm 0,0005
Solution étalon 8	1,2	1,2543 \pm 0,0050	-0,0544 \pm 0,0051	-0,0137 \pm 0,0001
Solution étalon 9	2,0	1,9950 \pm 0,0128	0,0052 \pm 0,0124	-0,0288 \pm 0,0003
Solution étalon 10	0,8	0,7202 \pm 0,0288	0,0798 \pm 0,0288	-0,0028 \pm 0,0006

Condition expérimentale : Fenêtres BaF₂ ; Chemin optique : 0. 1mm/10 scans

Tableau 17 : Paramètres analytiques de Limonène en considérant le spectre de 1^{ère} dérivée

LIMONENE

Régression : linéaire

L'intégration : mode B : 2829 (2840-2800)

Droite d'étalonnage : $Y = +0,25453 + 8,3969X$

{ Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).
X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0,9876

Sigma = 0,258 (~ 25.8%) : 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%).

($x \pm \delta$) : 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 ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	1,2	1,1447 \pm 0,0214	0,0555 \pm 0,0211	0,1060 \pm 0,0025
Solution étalon 2	1,2	1,7533 \pm 0,0092	-0,5534 \pm 0,0095	0,1785 \pm 0,0011
Solution étalon 3	1,2	1,0803 \pm 0,0167	0,1198 \pm 0,0168	0,0983 \pm 0,0020
Solution étalon 4	1,2	0,7751 \pm 0,0111	0,4249 \pm 0,0111	0,0620 \pm 0,0013
Solution étalon 5	6,0	6,0053 \pm 0,0212	-0,0052 \pm 0,0212	0,6849 \pm 0,0025
Solution étalon 6	4,0	3,7373 \pm 0,0025	0,2625 \pm 0,0025	0,4148 \pm 0,0003
Solution étalon 7	1,2	1,3800 \pm 0,0203	-0,1799 \pm 0,0201	0,1340 \pm 0,0024
Solution étalon 8	1,2	1,2717 \pm 0,0176	-0,0719 \pm 0,0176	0,1211 \pm 0,0021
Solution étalon 9	2,0	2,0903 \pm 0,0159	-0,0906 \pm 0,0160	0,2187 \pm 0,0019
Solution étalon 10	0,8	0,7618 \pm 0,0100	0,0383 \pm 0,0100	0,0604 \pm 0,0012

Condition expérimentale : Fenêtres BaF₂ ; Chemin optique : 0.1mm/10 scans

Les droites de calibration : $C_{\text{cal}} = f(C_{\text{réel}})$ des deux modèles développés montrés sur la figure 11 illustrent la bonne qualité de calibrage.

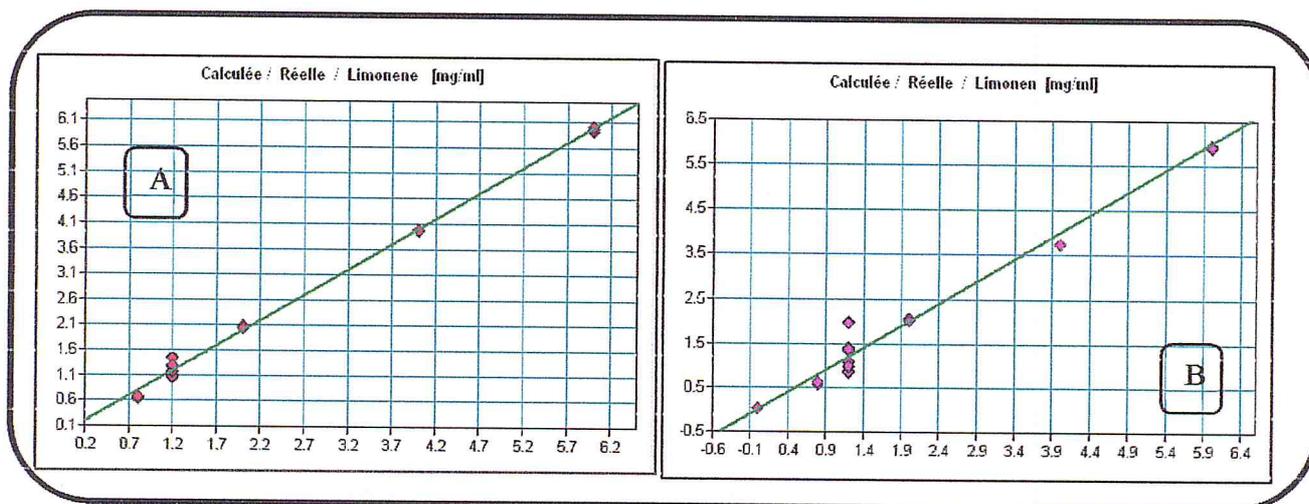


Figure 11: Représentations graphiques des paramètres analytiques pour le limonène : (A) spectre d'ordre zéro modèle I et (B) spectre de la 1^{ère} dérivé modèle B

Suite aux résultats montrés, on peut conclure que pour les trois étalons Camphre, Carvone et Thymol les meilleurs paramètres analytiques de calibrage sont obtenus en utilisant le mode d'intégration R des spectres d'ordre zéro alors que pour le limonène deux modes de calibration PLS sont possibles, soit le mode d'intégration I pour le spectre d'ordre zéro ou le mode de calibration B pour le spectre de la 1^{ère} dérivé.

III.3.- Optimisation des paramètres de détermination

III.3.1-Optimisation de la sensibilité de détermination

Un des problèmes rencontrés dans le dosage des métabolites secondaires dans les extraits des substances naturelles est lié à la faible teneur. Ceci nous a incité à augmenter le chemin optique afin d'augmenter la sensibilité. Pour se faire les fenêtres de fluorure de baryum (BaF_2) ont été substituées par les fenêtres de chlorure de Sodium (NaCl) et une entretoise de 1 mm d'épaisseur avec une augmentation des spectres accumulés à 20 spectres pour élargir la zone spectrale et exploiter tout le domaine de $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$.

Il a été vérifié en premier lieu, la possibilité d'identifier une bande spécifique pour le limonène dans la zone spectrale entre $800-400\text{ cm}^{-1}$ suite à l'utilisation des fenêtres de NaCl. Le spectre ci-dessous montre qu'aucune bande spécifique n'est apparue dans ce domaine spectral.

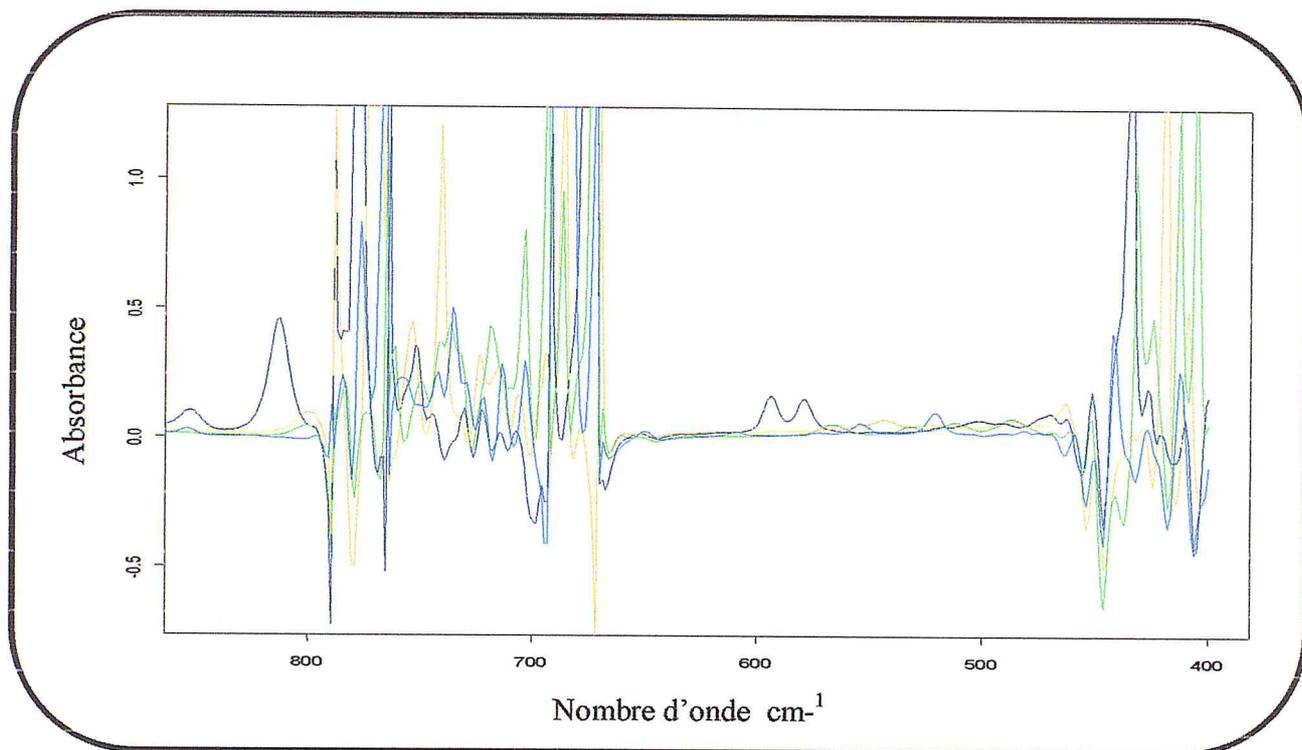


Figure 12 : Spectres IRTF ($800-400\text{cm}^{-1}$) d'absorbance d'un mélange de Camphre, Carvone, Thymol et Limonène (4mg/ml)

Les tableaux 18 au 22 résument les résultats de l'analyse PLS-IRTF des quatre composantes (Camphre, Carvone, Thymol et Limonène) en prenant en considération les nouvelles conditions expérimentales à savoir ; (i) fenêtres de NaCl, (ii) chemin optique égale à 1 mm, (iii) nombre de scans de 20 spectres et les modèles de calibrage développés.

Tableau 18 : Paramètres analytiques de Camphre

CAMPBRE				
Régression : linéaire				
L'intégration : mode R : 1737 (1763-1717) cm⁻¹				
Droite d'étalonnage : Y = -0,0045334 + 2,1848 X				
$\left\{ \begin{array}{l} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{array} \right.$				
Coefficient de corrélation (r) : 0,9998				
Sigma = 0,0437 (~4,37%) : 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±δ) : 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±δ)	Différence (x±δ)	Valeur d'intégration (x±δ)
Solution étalon 1	0,2	0,2097±0,0001	-0,0098±0,0001	0,0981±0,0000
Solution étalon 2	0,2	0,1949±0,0003	0,0051±0,0003	0,0913±0,0002
Solution étalon 3	6,0	6,0530±0,0139	-0,0529±0,0138	2,7727±0,0064
Solution étalon 4	0,2	0,1955±0,0003	0,0045±0,0002	0,0916±0,0001
Solution étalon 5	0,2	0,1911±0,0001	0,0090±0,0000	0,0895±0,0000
Solution étalon 6	0,2	0,1842±0,0001	0,0158±0,0001	0,0864±0,0000
Solution étalon 7	3,0	2,9087±0,0091	0,0911±0,0092	1,3333±0,0042
Solution étalon 8	0,2	0,2711±0,0030	-0,0711±0,0030	0,1261±0,0014
Solution étalon 9	2,0	1,9597±0,0021	0,0403±0,0019	0,8990±0,0009
Solution étalon 10	0,2	0,2363±0,0019	-0,0363±0,0018	0,1102±0,0009

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : Imm/20 scans

Tableau 19 : Paramètres analytiques du Carvone

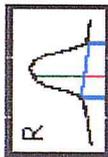
CARVONE

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1669 (1713-1594) cm^{-1} Droite d'étalonnage : $Y = 0,016988 + 2,5357 X$

{ Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).

X : Valeur d'intégration



Coefficient de corrélation (r) : 0,9998

Sigma = 0,0825 (~ 8,25%) : 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%). $(x \pm \delta)$: 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 ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	0,2	0,2072 \pm 0,0002	-0,0072 \pm 0,0001	0,0750 \pm 0,0001
Solution étalon 2	6,0	5,9500 \pm 0,0190	0,0501 \pm 0,0192	2,3397 \pm 0,0076
Solution étalon 3	0,2	0,0137 \pm 0,0023	0,1864 \pm 0,0023	-0,0013 \pm 0,0009
Solution étalon 4	0,2	0,1514 \pm 0,0001	0,0486 \pm 0,0001	0,0530 \pm 0,0000
Solution étalon 5	0,2	0,2425 \pm 0,0001	-0,0425 \pm 0,0001	0,0889 \pm 0,0000
Solution étalon 6	0,2	0,1762 \pm 0,0001	0,0238 \pm 0,0001	0,0628 \pm 0,0000
Solution étalon 7	3,0	2,9757 \pm 0,0055	0,0244 \pm 0,0058	1,1667 \pm 0,0021
Solution étalon 8	3,0	3,0493 \pm 0,0070	-0,0493 \pm 0,0067	1,1957 \pm 0,0025 *
Solution étalon 9	2,0	2,0853 \pm 0,0065	-0,0855 \pm 0,0064	0,8158 \pm 0,0026
Solution étalon 10	0,2	0,3321 \pm 0,0013	-0,1321 \pm 0,0013	0,1243 \pm 0,0005

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

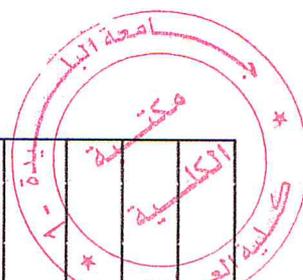


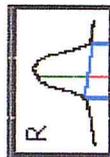
Tableau 20 : Paramètres analytiques de Thymol

THYMOL

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 3589 (3630-3530) cm⁻¹

Droite d'étalonnage : Y = -0,06262 + 11,548 X

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$


Coefficient de corrélation (r) : 0,9998

Sigma = 0,0728 (~7,28%) : 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±δ) : Valeur moyenne ± déviation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

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

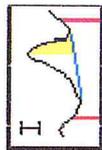
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée (x±δ)	Différence (x±δ)	Valeur d'intégration (x±δ)
Solution étalon 1	1,2	1,2090±0,0010	-0,0091±0,0012	0,1101±0,0001
Solution étalon 2	1,2	1,1580±0,0020	0,0421±0,0019	0,1057±0,0002
Solution étalon 3	1,2	1,3823±0,0006	-0,1826±0,0002	0,1251±0,0001
Solution étalon 4	6,0	5,9997±0,0040	0,0004±0,0039	0,5250±0,0003
Solution étalon 5	1,2	1,2273±0,0006	-0,0272±0,0004	0,1117±0,0000
Solution étalon 6	4,0	4,0323±0,0006	-0,0323±0,0002	0,3546±0,0000
Solution étalon 7	1,2	1,2200±0,0069	-0,0203±0,0069	0,1111±0,0006
Solution étalon 8	3,0	2,9243±0,0031	0,0760±0,0030	0,2586±0,0003
Solution étalon 9	2,0	1,9077±0,0025	0,0923±0,0022	0,1706±0,0002
Solution étalon 10	0,8	0,7934±0,0015	0,0066±0,0014	0,0741±0,0001

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

Tableau 21 : Paramètres analytiques de Limonène en considérant spectre d'ordre zéro mode I

LIMONENE

Régression : linéaire

L'intégration : mode I : 2836(2840-2800) cm^{-1} Droite d'étalonnage : $Y = +0,44268 - 5,4455 X$

$$\left\{ \begin{array}{l} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml)} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{array} \right.$$

Coefficient de corrélation (r) : 0,9909

Sigma = 0,226 (~ 22,6%) : 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 $\pm\delta$) : Valeur moyenne \pm déviatation standard pour (n=3), trois valeurs dépendantes.

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

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée (x $\pm\delta$)	Différence (x $\pm\delta$)	Valeur d'intégration (x $\pm\delta$)
Solution étalon 1	1,2	0,9490 \pm 0,0018	0,2510 \pm 0,0018	-0,0930 \pm 0,0003
Solution étalon 2	1,2	0,9365 \pm 0,0070	0,2635 \pm 0,0070	-0,0907 \pm 0,0013
Solution étalon 3	1,2	1,0757 \pm 0,0029	0,1242 \pm 0,0026	-0,1163 \pm 0,0005
Solution étalon 4	1,2	1,3797 \pm 0,0068	-0,1798 \pm 0,0068	-0,1721 \pm 0,0012
Solution étalon 5	6,0	5,8517 \pm 0,0104	0,1486 \pm 0,0105	-0,9932 \pm 0,0019
Solution étalon 6	4,0	4,0647 \pm 0,0084	-0,0647 \pm 0,0085	-0,6651 \pm 0,0016
Solution étalon 7	1,2	1,0181 \pm 0,1142	0,1820 \pm 0,1141	-0,1057 \pm 0,0210
Solution étalon 8	1,2	1,6237 \pm 0,0225	-0,4237 \pm 0,0227	-0,2169 \pm 0,0042
Solution étalon 9	2,0	2,1483 \pm 0,0397	-0,1483 \pm 0,0398	-0,3132 \pm 0,0073
Solution étalon 10	0,8	0,9529 \pm 0,0052	-0,1529 \pm 0,0052	-0,0937 \pm 0,0010

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : Imm/20 scans

Tableau 22 : Paramètres analytiques de Limonène en considérant spectre de 1^{ère} dérivé

LIMONENE
Régression : linéaire

L'intégration : mode B : 2829 (2840-2800) cm⁻¹
Droite d'étalonnage : Y = +0,40434 + 0,85955X

{ Y : Valeur pour la composante en (mg/ml).
 X : Valeur d'intégration

Coefficient de corrélation (r) : 0,9898
Sigma = 0,248 (~ 24,8%): 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 1 σ (~ 68%).

(x \pm δ) : 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 δ)	Différence (x \pm δ)	Valeur d'intégration (x \pm δ)
Solution étalon 1	1,2	1,1387 \pm 0,0015	0,0613 \pm 0,0015	0,8544 \pm 0,0018
Solution étalon 2	1,2	1,7220 \pm 0,0020	-0,5220 \pm 0,0018	1,5327 \pm 0,0021
Solution étalon 3	1,2	1,1697 \pm 0,0055	0,0302 \pm 0,0053	0,8905 \pm 0,0062
Solution étalon 4	1,2	0,7881 \pm 0,0023	0,4119 \pm 0,0023	0,4465 \pm 0,0027
Solution étalon 5	6,0	6,0160 \pm 0,0035	-0,0160 \pm 0,0032	6,5287 \pm 0,0038
Solution étalon 6	4,0	3,7373 \pm 0,0021	0,2624 \pm 0,0019	3,8777 \pm 0,0025
Solution étalon 7	1,2	1,4087 \pm 0,0144	-0,2086 \pm 0,0141	1,1683 \pm 0,0167
Solution étalon 8	1,2	1,2340 \pm 0,0035	-0,0339 \pm 0,0035	0,9651 \pm 0,0040
Solution étalon 9	2,0	2,0667 \pm 0,0047	-0,0667 \pm 0,0050	1,9340 \pm 0,0062
Solution étalon 10	0,8	0,7185 \pm 0,0019	0,0815 \pm 0,0019	0,3655 \pm 0,0023

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

Les résultats montrent l'intérêt de l'augmentation du chemin optique et ce, par l'augmentation de la sensibilité. En comparant les pentes des droites des étalons obtenues avec un chemin optique de 0.1 mm (tableau 13 ; 17) avec les pentes des droites des mêmes étalons obtenues avec un chemin optique de 1 mm (tableau 18 ; 22) on note une augmentation de la sensibilité de 10 fois.

III.3.2.-Elargissement de domaine de concentration

L'augmentation de la sensibilité permet la diminution des limites de quantification. De ce fait, on a procédé à la diminution des limites inférieures des concentrations des étalons pour atteindre des valeurs de l'ordre de 0,05 mg/ml.

Le tableau 23 résume la teneur des 20 solutions étalons en termes de volumes, concentrations et pourcentages dans les mélanges.

Tableau 23 : Composition des solutions étalon (matrice de la calibration)

Camphre				Carvone			Thymol			Limonène		
Solution étalon	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%	C mg/ml	V ml	P%
01	0,2	0,1	7,14	0,2	0,1	7,14	1,2	0,6	42,85	1,2	0,6	42,85
02	0,2	0,1	2,33	6,0	3,0	69,76	1,2	0,6	13,95	1,2	0,6	13,95
03	6,0	3,0	53,57	0,2	0,1	3,52	1,2	0,6	21,42	1,2	0,6	21,42
04	0,2	0,1	2,63	0,2	0,1	2,63	6,0	3,0	78,95	1,2	0,6	15,79
05	0,2	0,1	2,63	0,2	0,1	2,63	1,2	0,6	15,79	6,0	3,0	78,95
06	0,2	0,1	2,38	0,2	0,1	2,38	4,0	2,0	47,62	4,0	2,0	47,62
07	3,0	1,5	35,71	3,0	1,5	35,71	1,2	0,6	14,29	1,2	0,6	14,29
08	0,2	0,1	2,70	3,0	1,5	40,54	3,0	1,5	40,54	1,2	0,6	16,22
09	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25	2,0	1,0	25
10	0,2	0,1	10	0,2	0,1	10	0,8	0,4	40	0,8	0,4	40
11	0,05	0,1	3,33	0,2	0,4	13,33	1,0	2,0	66,66	0,25	0,5	16,66
12	0,175	0,35	7,86	0,15	0,3	6,74	0,1	0,2	4,50	1,8	3,6	80,89
13	1,25	2,5	80,64	0,1	0,2	6,45	0,15	0,3	9,67	0,05	0,1	3,23
14	0,15	0,3	7,69	1,5	3,0	76,92	0,15	0,3	7,69	0,15	0,3	7,69
15	1,0	2,0	41,66	1,1	2,2	45,83	0,1	0,2	4,16	0,2	0,4	8,33
16	0,25	0,5	12,19	0,05	0,1	2,44	1,0	2,0	48,78	0,75	1,5	36,58
17	0,1	0,2	6,25	0,75	1,5	46,88	0,65	1,3	40,63	0,1	0,2	6,25
18	1,05	2,1	46,66	0,15	0,3	6,66	0,05	0,1	2,22	1,0	2,0	44,44
19	0,05	0,1	5	0,4	0,8	40	0,4	0,8	40	0,15	0,3	15
20	0,1	0,2	10,53	0,1	0,2	10,53	0,75	1,5	78,94	0,0	0,0	0,0

C : Concentration de l'étalon dans l'échantillon synthétique en mg/ml, P : Pourcentage % d'un étalon dans l'échantillon synthétique, V : Volume prélevé de la solution mère en ml, (un volume finale de 5 ml est considéré).

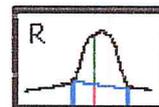
III.3.3-Parametres analytique des quatre composantes (camphre, carvone, thymol et limonène) dans le nouveau domaine de concentration

D'après les résultats de l'analyse PLS-IRTF pour les quatre composante Camphre, Carvone, Thymol et Limonène (tableau 24 ; 28) on note une bonne qualité de calibrage dans le nouveau domaine de concentration 0,05 à 6 mg/ml et des pentes identiques à celles obtenues lors de la considération du domaine de concentration compris entre 0,8 et 6 mg/ml.

Tableau 24 : Paramètres analytiques de Camphre

CAMPBRE

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1737 (1763-1717) cm^{-1} Droite d'étalonnage : $Y = -0,019806 + 2,1845 X$ 

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$

Coefficient de corrélation (r) : 0,9998

Σ = 0,0421 (~ 4,21%) : 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%).

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

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

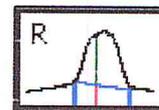
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	0,2	0,1944 \pm 0,0001	0,0055 \pm 0,0001	0,0981 \pm 0,0000
Solution étalon 2	0,2	0,1796 \pm 0,0003	0,0204 \pm 0,0003	0,0913 \pm 0,0002
Solution étalon 3	6,0	6,0370 \pm 0,0139	-0,0369 \pm 0,0138	2,7727 \pm 0,0064
Solution étalon 4	0,2	0,1802 \pm 0,0003	0,0198 \pm 0,0002	0,0916 \pm 0,0001
Solution étalon 5	0,2	0,1758 \pm 0,0001	0,0243 \pm 0,0000	0,0895 \pm 0,0000
Solution étalon 6	0,2	0,1689 \pm 0,0001	0,0311 \pm 0,0001	0,0864 \pm 0,0000
Solution étalon 7	3,0	2,8937 \pm 0,0091	0,1067 \pm 0,0093	1,3333 \pm 0,0042
Solution étalon 8	0,2	0,2558 \pm 0,0030	-0,0558 \pm 0,0030	0,1261 \pm 0,0014
Solution étalon 9	2,0	1,9440 \pm 0,0020	0,0558 \pm 0,0019	0,8990 \pm 0,0009
Solution étalon 10	0,2	0,2210 \pm 0,0019	-0,0210 \pm 0,0018	0,1102 \pm 0,0009
Solution étalon 11	0,05	0,0347 \pm 0,0001	0,0153 \pm 0,0001	0,0250 \pm 0,0000
Solution étalon 12	0,175	0,2143 \pm 0,0001	-0,0393 \pm 0,0001	0,1072 \pm 0,0000
Solution étalon 13	1,25	1,3380 \pm 0,0010	-0,0882 \pm 0,0007	0,6216 \pm 0,0004
Solution étalon 14	0,15	0,1490 \pm 0,0001	0,0010 \pm 0,0000	0,0773 \pm 0,0000
Solution étalon 15	1,0	1,0217 \pm 0,0025	-0,0219 \pm 0,0023	0,4768 \pm 0,0011
Solution étalon 16	0,25	0,2575 \pm 0,0001	-0,0075 \pm 0,0001	0,1269 \pm 0,0001
Solution étalon 17	0,1	0,0959 \pm 0,0001	0,0041 \pm 0,0001	0,0529 \pm 0,0000
Solution étalon 18	1,05	1,0917 \pm 0,0006	-0,0416 \pm 0,0003	0,5088 \pm 0,0002
Solution étalon 19	0,05	0,0339 \pm 0,0001	0,0161 \pm 0,0001	0,0246 \pm 0,0000
Solution étalon 20	0,1	0,0880 \pm 0,0001	0,0120 \pm 0,0001	0,0493 \pm 0,0000

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

Tableau 25 : Paramètres analytiques du Carvone

CARVONE

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 1669 (1713-1594) cm^{-1} Droite d'étalonnage : $Y = 0,010133 + 2,5289 X$ 

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$

Coefficient de corrélation (r) : 0,9989

Sigma = 0,0724 (~ 7,24%) : 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%).

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

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

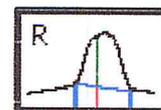
Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	0,2	0,1973 \pm 0,0002	0,0027 \pm 0,0001	0,0750 \pm 0,0001
Solution étalon 2	6,0	5,9293 \pm 0,0196	0,0707 \pm 0,0192	2,3397 \pm 0,0076
Solution étalon 3	0,2	0,0042 \pm 0,0023	0,1958 \pm 0,0022	-0,0013 \pm 0,0009
Solution étalon 4	0,2	0,1417 \pm 0,0001	0,0583 \pm 0,0001	0,0530 \pm 0,0000
Solution étalon 5	0,2	0,2326 \pm 0,0001	-0,0326 \pm 0,0001	0,0889 \pm 0,0000
Solution étalon 6	0,2	0,1664 \pm 0,0001	0,0336 \pm 0,0001	0,0628 \pm 0,0000
Solution étalon 7	3,0	2,9607 \pm 0,0055	0,0394 \pm 0,0057	1,1667 \pm 0,0021
Solution étalon 8	3,0	3,0340 \pm 0,0070	-0,0341 \pm 0,0067	1,1957 \pm 0,0025
Solution étalon 9	2,0	2,0723 \pm 0,0065	-0,0722 \pm 0,0064	0,8158 \pm 0,0026
Solution étalon 10	0,2	0,3220 \pm 0,0013	-0,1220 \pm 0,0013	0,1243 \pm 0,0005
Solution étalon 11	0,2	0,1826 \pm 0,0002	0,0174 \pm 0,0002	0,0692 \pm 0,0001
Solution étalon 12	0,15	0,1790 \pm 0,0001	-0,0290 \pm 0,0001	0,0678 \pm 0,0000
Solution étalon 13	0,1	0,0685 \pm 0,0000	0,0315 \pm 0,0000	0,0241 \pm 0,0000
Solution étalon 14	1,5	1,6440 \pm 0,0010	-0,1441 \pm 0,0009	0,6466 \pm 0,0004
Solution étalon 15	1,1	1,0447 \pm 0,0015	0,0551 \pm 0,0018	0,4099 \pm 0,0007
Solution étalon 16	0,05	0,0295 \pm 0,0001	0,0205 \pm 0,0001	0,0087 \pm 0,0000
Solution étalon 17	0,75	0,8212 \pm 0,0010	-0,0712 \pm 0,0009	0,3215 \pm 0,0004
Solution étalon 18	0,15	0,1303 \pm 0,0000	0,0197 \pm 0,0000	0,0485 \pm 0,0000
Solution étalon 19	0,4	0,4370 \pm 0,0002	-0,0370 \pm 0,0002	0,1697 \pm 0,0001
Solution étalon 20	0,1	0,1024 \pm 0,0001	-0,0024 \pm 0,0001	0,0375 \pm 0,0000

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique: 1mm/20 scans

Tableau 26 : Paramètres analytiques de Thymol

THYMOL

Régression : linéaire

L'intégration : mode R : 3589 (3630-3530) cm^{-1} Droite d'étalonnage : $Y = -0,11666 + 11,697 X$ 

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$

Coefficient de corrélation (r) : 0,9998

$\text{Sigma} = 0,0649 (\sim 6,49\%)$: 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 ($\sim 68\%$).

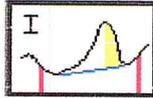
$(x \pm \delta)$: Valeur moyenne \pm déviation standard pour ($n=3$), trois valeurs dépendantes.

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

Solution étalon	Valeur réelle	Valeur calculée ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	1,2	1,1717 \pm 0,0015	0,0286 \pm 0,0012	0,1101 \pm 0,0001
Solution étalon 2	1,2	1,1197 \pm 0,0015	0,0804 \pm 0,0019	0,1057 \pm 0,0002
Solution étalon 3	1,2	1,3470 \pm 0,0000	-0,1471 \pm 0,0002	0,1251 \pm 0,0001
Solution étalon 4	6,0	6,0237 \pm 0,0040	-0,0235 \pm 0,0039	0,5250 \pm 0,0003
Solution étalon 5	1,2	1,1897 \pm 0,0006	0,0102 \pm 0,0004	0,1117 \pm 0,0000
Solution étalon 6	4,0	4,0310 \pm 0,0000	-0,0309 \pm 0,0002	0,3546 \pm 0,0000
Solution étalon 7	1,2	1,1830 \pm 0,0069	0,0173 \pm 0,0070	0,1111 \pm 0,0006
Solution étalon 8	3,0	2,9083 \pm 0,0031	0,0917 \pm 0,0031	0,2586 \pm 0,0003
Solution étalon 9	2,0	1,8790 \pm 0,0020	0,1210 \pm 0,0023	0,1706 \pm 0,0002
Solution étalon 10	0,8	0,7503 \pm 0,0014	0,0497 \pm 0,0014	0,0741 \pm 0,0001
Solution étalon 11	1,0	1,1177 \pm 0,0006	-0,1175 \pm 0,0007	0,1055 \pm 0,0001
Solution étalon 12	0,1	0,1509 \pm 0,0005	-0,0509 \pm 0,0005	0,0229 \pm 0,0000
Solution étalon 13	0,15	0,1285 \pm 0,0005	0,0215 \pm 0,0004	0,0210 \pm 0,0000
Solution étalon 14	0,15	0,1242 \pm 0,0003	0,0257 \pm 0,0003	0,0206 \pm 0,0000
Solution étalon 15	0,1	0,0854 \pm 0,0006	0,0146 \pm 0,0006	0,0173 \pm 0,0000
Solution étalon 16	1,0	1,0820 \pm 0,0010	-0,0823 \pm 0,0012	0,1025 \pm 0,0001
Solution étalon 17	0,65	0,6658 \pm 0,0002	-0,0158 \pm 0,0002	0,0669 \pm 0,0000
Solution étalon 18	0,05	0,0601 \pm 0,0007	-0,0101 \pm 0,0007	0,0151 \pm 0,0001
Solution étalon 19	0,4	0,3895 \pm 0,0005	0,0105 \pm 0,0004	0,0433 \pm 0,0000
Solution étalon 20	0,75	0,7429 \pm 0,0007	0,0070 \pm 0,0007	0,0735 \pm 0,0001

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

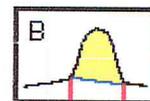
Tableau 27 : Paramètres analytiques de limonène en considérant le spectre d'ordre zéro mode I

LIMONENE				
Régression : linéaire				
L'intégration : mode I : 2836 (2840-2800) cm⁻¹				
Droite d'étalonnage : Y = +0,53572 -5,2823 X				
$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$				
Coefficient de corrélation (r) : 0,9889				
Sigma = 0,221 (~ 22,1%) : 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±δ) : 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±δ)	Différence (x±δ)	Valeur d'intégration (x±δ)
Solution étalon 1	1,2	1,0270±0,0020	0,1732±0,0017	-0,0930±0,0003
Solution étalon 2	1,2	1,0147±0,0067	0,1853±0,0068	-0,0907±0,0013
Solution étalon 3	1,2	1,1500±0,0026	0,0501±0,0025	-0,1163±0,0005
Solution étalon 4	1,2	1,4447±0,0068	-0,2448±0,0066	-0,1721±0,0012
Solution étalon 5	6,0	5,7823±0,0100	0,2177±0,0102	-0,9932±0,0019
Solution étalon 6	4,0	4,0490±0,0078	-0,0492±0,0082	-0,6651±0,0016
Solution étalon 7	1,2	1,0940±0,1108	0,1062±0,1107	-0,1057±0,0210
Solution étalon 8	1,2	1,6813±0,0220	-0,4813±0,0220	-0,2169±0,0042
Solution étalon 9	2,0	2,1903±0,0388	-0,1903±0,0386	-0,3132±0,0073
Solution étalon 10	0,8	1,0303±0,0051	-0,2306±0,0052	-0,0937±0,0010
Solution étalon 11	0,25	0,0980±0,0036	0,1520±0,0036	0,0829±0,0007
Solution étalon 12	1,8	1,6033±0,0021	0,1965±0,0021	-0,2021±0,0004
Solution étalon 13	0,05	0,1574±0,0024	-0,1074±0,0024	0,0716±0,0004
Solution étalon 14	0,15	-0,0838±0,0050	0,2338±0,0051	0,1173±0,0010
Solution étalon 15	0,2	-0,0229±0,0026	0,2230±0,0026	0,1057±0,0005
Solution étalon 16	0,75	0,6748±0,0010	0,0752±0,0010	-0,0263±0,0002
Solution étalon 17	0,1	-0,0388±0,0059	0,1388±0,0059	0,1088±0,0011
Solution étalon 18	1,0	0,8580±0,0074	0,1420±0,0074	-0,0610±0,0014
Solution étalon 19	0,15	0,3306±0,0178	-0,1806±0,0178	0,0388±0,0034
Solution étalon 20	0,0	0,4097±0,0180	-0,4097±0,0180	0,0239±0,0034

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

Tableau 28 : Paramètres analytiques de limonène en considérant le spectre de la 1^{ère} dérivé**LIMONENE**

Régression : linéaire

L'intégration : mode B : 2829 (2840-2800) cm⁻¹Droite d'étalonnage : $Y = +0,42297 + 0,85241 X$ 

$$\begin{cases} Y : \text{Valeur pour la composante en (mg/ml).} \\ X : \text{Valeur d'intégration} \end{cases}$$

Coefficient de corrélation (r) : 0,9921

Sigma = 0,181 (~ 18,1%): 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%).

($x \pm \delta$) : 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 ($x \pm \delta$)	Différence ($x \pm \delta$)	Valeur d'intégration ($x \pm \delta$)
Solution étalon 1	1,2	1,1517 \pm 0,0015	0,0488 \pm 0,0015	0,8544 \pm 0,0018
Solution étalon 2	1,2	1,7297 \pm 0,0021	-0,5296 \pm 0,0018	1,5327 \pm 0,0021
Solution étalon 3	1,2	1,1823 \pm 0,0050	0,0179 \pm 0,0053	0,8905 \pm 0,0062
Solution étalon 4	1,2	0,8036 \pm 0,0023	0,3964 \pm 0,0023	0,4465 \pm 0,0027
Solution étalon 5	6,0	5,9880 \pm 0,0035	0,0120 \pm 0,0031	6,5287 \pm 0,0038
Solution étalon 6	4,0	3,7283 \pm 0,0021	0,2715 \pm 0,0019	3,8777 \pm 0,0025
Solution étalon 7	1,2	1,4190 \pm 0,0139	-0,2189 \pm 0,0140	1,1683 \pm 0,0167
Solution étalon 8	1,2	1,2457 \pm 0,0032	-0,0457 \pm 0,0035	0,9651 \pm 0,0040
Solution étalon 9	2,0	2,0717 \pm 0,0047	-0,0716 \pm 0,0049	1,9340 \pm 0,0062
Solution étalon 10	0,8	0,7345 \pm 0,0019	0,0655 \pm 0,0019	0,3655 \pm 0,0023
Solution étalon 11	0,25	0,1436 \pm 0,0070	0,1064 \pm 0,0070	-0,3278 \pm 0,0083
Solution étalon 12	1,8	1,8147 \pm 0,0015	-0,0145 \pm 0,0017	1,6323 \pm 0,0021
Solution étalon 13	0,05	-0,0095 \pm 0,0022	0,0595 \pm 0,0022	-0,5073 \pm 0,0026
Solution étalon 14	0,15	0,2591 \pm 0,0008	-0,1091 \pm 0,0008	-0,1922 \pm 0,0009
Solution étalon 15	0,2	0,3052 \pm 0,0947	-0,1052 \pm 0,0947	-0,1381 \pm 0,1111
Solution étalon 16	0,75	0,6808 \pm 0,0009	0,0692 \pm 0,0009	0,3024 \pm 0,0011
Solution étalon 17	0,1	0,0960 \pm 0,0019	0,0040 \pm 0,0019	-0,3836 \pm 0,0022
Solution étalon 18	1,0	1,0530 \pm 0,0020	-0,0530 \pm 0,0017	0,7391 \pm 0,0020
Solution étalon 19	0,15	0,1514 \pm 0,0021	-0,0014 \pm 0,0021	-0,3186 \pm 0,0025
Solution étalon 20	0,0	-0,0977 \pm 0,0004	0,0977 \pm 0,0004	-0,6108 \pm 0,0004

Condition expérimentale : Fenêtres NaCl ; Chemin optique : 1mm/20 scans

III.4.-Analyse PLS-IRTF des échantillons réels

III.4.1.-Préparation des huiles essentielles

Deux techniques d'extraction des huiles essentielles (hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur) ont été utilisées dans ce travail afin d'obtenir huit (08) échantillons réels pour prédire la teneur des monoterpènes considérés dans cette étude.

○ Hydrodistillation

L'extraction de chaque huile essentielle en l'occurrence l'Armoise, l'Anis étoilé, le Clous de girofle, le Myrte et le Romarin a été réalisée par hydrodistillation dans un montage à l'échelle laboratoire (figure 13) une masse végétative de 45 g en moyenne est complètement immergée dans l'eau, le tout ensuite porté à ébullition. On maintient le chauffage à une température modérée pendant 1h:30, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant. L'huile essentielle et l'eau se séparent par différence de densité.



Figure 13 : Montage d'hydrodistillation utilisé

Le mélange eau-huile essentielle est soumis à une extraction liquide-liquide avec l'éther diéthylique. On obtient deux phases distinctes, une phase aqueuse et une phase organique contenant l'huile essentielle qui subit une filtration sous le sulfate de magnésium ($MgSO_4$) afin d'éliminer toutes les traces d'eau.

○ Entraînement à la vapeur

L'entraînement à la vapeur d'eau est la méthode utilisée pour l'obtention des huiles essentielles de Carvi, Thym et Zeste d'orange.

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. L'entraînement à la vapeur d'eau consiste à récupérer l'huile essentielle des végétaux, en faisant passer à travers ces derniers un courant de vapeur d'eau, qui traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « vapeur d'eau+ huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier, avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle [60].

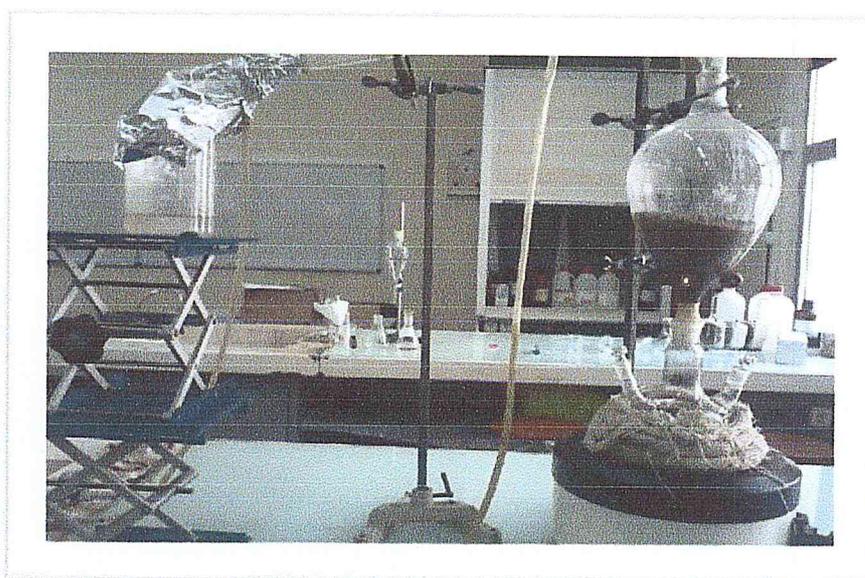


Figure 14 : Montage d'entraînement à la vapeur utilisé

III.4.2.- Analyse des huiles essentielles par PLS-IRTF

a) Analyse des huiles essentielles sans ajout des étalons

Dans cette étude deux raisonnements pour le choix des plantes ont été considérées, (i) la première lorsque un des monoterpènes utilisés dans cette étude, constitue le produit majoritaire de la composition chimique de l'huile essentielle, (ii) la deuxième lorsqu'aucun de ces monoterpènes n'est présent dans la composition chimique de l'huile essentielle et dans ce dernier cas, la quantité de monoterpène qu'on ajoutera représentera la valeur référence.

Il y a lieu de noter que la valeur référence de la teneur des monoterpènes utilisés dans les huiles essentielles a été prise dans des travaux scientifiques réalisés.

Des masses connues d'huiles essentielles ont été diluées dans 3ml de CH_2Cl_2 et analysées par PLS-IRTF.

Tableau 29 : L'analyse quantitative des huiles essentielles par PLS-IRTF

Etalon Echantillon	Camphre		Carvone		Thymol		Limonène				
	C (mg/ml)	P (%)	C (mg/ml)	P (%)	C (mg/ml)	P (%)	C (mg/ml)	P (%)	C (mg/ml)		
Anis étoilé	V _t	-	-	-	-	-	-	-	-	1,05 %	
	V _e	-	-	-	-	-	-	4,17 ± 0,15	142	2,39 ± 0,00	81,47
Armoise	V _t	0,2	4,17	-	-	-	-	-	-	-	0,15 %
	V _e	-	-	1,27 ± 0,03	24,66	0,11 ± 0,14	2,13	0,66 ± 0,00	12,81	0,42 ± 0,02	8,15
Clous de girofle	V _t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	V _e	-	-	-	-	-	-	1,81 ± 0,13	68,30	-	-
Carvi	V _t	-	-	1	37,98	-	-	0,7 mg/ml	-	-	26,55 %
	V _e	-	-	2,10 ± 0,01	75,90	-	-	0,37 ± 0,00	13,37	0,37 ± 0,00	6,68
Myrte	V _t	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	V _e	0,11 ± 0,01	2,11	-	-	0,25 ± 0,05	4,80	3,16 ± 0,19	60,76	0,67 ± 0,19	2,01
Romarin	V _t	-	14,5	-	-	-	-	0,2 mg/ml	-	-	3,2 %
	V _e	0,3 ± 0,08	5,82	0,24 ± 0,05	4,66	0,8 ± 0,01	15,53	1,16 ± 0,11	22,52	-	-
Thym	V _t	1,5	27,70	-	-	2,25	44,2	0,25 mg/ml	-	-	4,85 %
	V _e	-	-	-	-	2,97 ± 0,04	58,23	0,08 ± 0,09	1,56	-	-
Zeste d'orange	V _t	-	-	-	-	-	-	2mg/ml	-	-	76,7 %
	V _e	-	-	-	1,6	-	-	2,58 ± 0,16	103,2	2,43 ± 0,00	97,2

V_t : valeur théorique, V_e : valeur expérimentale (mg/ml) ± δ

δ : Valeur moyenne ± déviation standard de deux mesures indépendantes

L'analyse des résultats de la table 29 montre des valeurs comparable entre les teneurs théoriques et prédites par le modèle développé et ce, lorsque l'étalon est majoritaire dans l'huile essentielle (carvone dans le carvi, thymol dans le thym et limonène dans le zeste d'orange).

Lorsque les teneurs théoriques et prédites ne concordent pas, ceci pourrait avoir deux explications (a) ou les espèces considérées dans cette étude sont de natures différentes des espèces des travaux scientifiques utilisés comme référence. (b) ou la prédiction par excès indique la présence d'autres monoterpènes qui pourront avoir le même environnement chimique que la monoterpène de notre étude au niveau du groupement fonctionnel sélectionné.

Bien entendu, l'étude comparative correcte pour valider les modèles développés devrait se faire avec les résultats d'analyse chimique par CG-SM de nos huiles.

Concernent le limonène, on constate que les teneurs sont plus grandes en utilisant le spectre d'ordre zéro ce qui implique que le mode d'intégration I est toujours interféré par la présence des autres étalons suite à cela le mode d'intégration B du spectre dérivé du limonène à 2829cm^{-1} est sélectionné.

b) Analyse des huiles essentielles après enrichissement

Pour valider partiellement les modèles développées nous avons procédé à l'enrichissement des échantillons et nous avons calculé le pourcentage de récupération pour les autres étalons.

Le pourcentage de récupération est calculé par l'utilisation de la loi suivante :

$$R\% = \text{valeur trouvé} / (\text{valeur présente} + \text{valeur ajouté}) * 100$$

Tableau 30 : Pourcentage de récupérations de camphre calculé après analyse quantitative (mg/ml) dans les huiles essentielles par PLS-IRTF

Echantillon	Valeur ajouté	Valeur présente*	Valeur trouvé*	R(%)
Anis étoilé	4,2	-	$3,84 \pm 0,05$	91,42
Armoise	1,8	-	$1,70 \pm 0,02$	94,44
Clous de girofle	1,4	-	$1,28 \pm 0,02$	91,42
Carvi	1,7	-	$1,61 \pm 0,00$	94,70
Myrte	1,05	$0,11 \pm 0,01$	$1,30 \pm 0,01$	112,06
Romarin	1,1	$0,3 \pm 0,08$	$1,41 \pm 0,01$	124,77
Thym	3,65	-	$3,22 \pm 0,02$	88,22
Zeste d'orange	1,6	-	$1,76 \pm 0,00$	110

* : Valeur moyenne \pm déviation standard de trois mesures dépendantes

Tableau 31 : Pourcentage de récupérations du carvone calculé après analyse quantitative (mg/ml) dans les huiles essentielles par PLS-IRTF

Echantillon	Valeur ajouté	Valeur présente*	Valeur trouvé*	R(%)
Anis étoilé	1,95	-	1,53± 0,01	78,46
Armoise	1,95	1,27± 0,03	3,34± 0,04	103,72
Clous de girofle	4	-	3,64±0,06	91
Carvi	1,25	2,10 ± 0,01	3,87±0,01	115,52
Myrte	3,9	-	3,66±0,04	93,84
Romarin	1,2	0,24± 0,05	1,64±0,02	113,88
Thym	5,8	-	5,14±0,03	88,62
Zeste d'orange	1,45	0,04± 0,00	1,04±0,00	69,79

* : Valeur moyenne ± déviation standard de trois mesures dépendantes

Tableau 32 : Pourcentage de récupérations de thymol calculé après analyse quantitative (mg/ml) dans les huiles essentielles par PLS-IRTF

Echantillon	Valeur ajouté	Valeur présente*	Valeur trouvé*	R(%)
Anis étoilé	2,3	-	1,85±0,02	80,43
Armoise	2,05	0,11 ±0,14	1,89±0,01	87,5
Clous de girofle	1,55	-	0,71±0,01	45,80
Carvi	1,7	-	1,42±0,00	83,52
Myrte	1	0,25± 0,05	1,4±0,34	112
Romarin	1,3	0,8± 0,01	1,22±0,01	58,09
Thym	1,9	2,97± 0,04	4,24±0,02	87,06
Zeste d'orange	1,6	-	1,76±0,00	110

* : Valeur moyenne ± déviation standard de trois mesures dépendantes

Tableau 33 : Pourcentage de récupérations de limonène calculé après analyse quantitative (mg/ml) dans les huiles essentielles par PLS-IRTF

Echantillon	Valeur ajouté	Valeur présente*	Valeur trouvé*	R(%)
Anis étoilé	1,85	2,39 ± 0,00	4,98 ± 0,05	117,45
Armoise	1,25	0,42 ± 0,02	1,87 ± 0,02	111,97
Clous de girofle	1,4	-	1,24 ± 0,01	88,6
Carvi	1	0,19 ± 0,13	1,25 ± 0,00	105
Myrte	2,3	0,67 ± 0,19	3,49 ± 0,03	117,50
Romarin	1	-	0,98 ± 0,00	98
Thym	2,55	-	2,60 ± 0,01	102
Zeste d'orange	1,5	2,43 ± 0,00	2,48 ± 0,00	63

* : Valeur moyenne ± déviation standard de trois mesures dépendantes

L'analyse des quatre tables (30 ; 33) montre globalement des bonne valeurs de récupération (90-110 %) pouvant valider les modelés développés dans cette étude.

Cependant nous notons des valeurs d'analyses par défaut ou par excès, ceci pourrait être dû à des fautes de manipulation, d'où la nécessité d'obtenir des mesures indépendantes de trois répliques au moins pour confirmer les résultats obtenus.

Conclusion

Nous avons réussi à travers ce modeste travail à atteindre deux objectifs importants à savoir :

- 1) L'exploitation des paramètres du logiciel PLS, notamment les modes d'intégration et les modèles de régression, pour améliorer la qualité de calibration.
- 2) Le défi du logiciel PLS (Quant 1) qui n'est exploitable que si les spectres des étalons présentent des pics séparés et ce, par l'utilisation d'une bande interférée. Ce défi repose sur l'utilisation du spectre dérivé.

Afin de construire le modèle de calibration dix solutions étalons ont été préparées dans un domaine de concentration compris entre 0,2 et 6 mg.mL⁻¹ et en utilisant des fenêtres de NaCl, une entretoise de 1 mm d'épaisseur et une accumulation de 20 spectres.

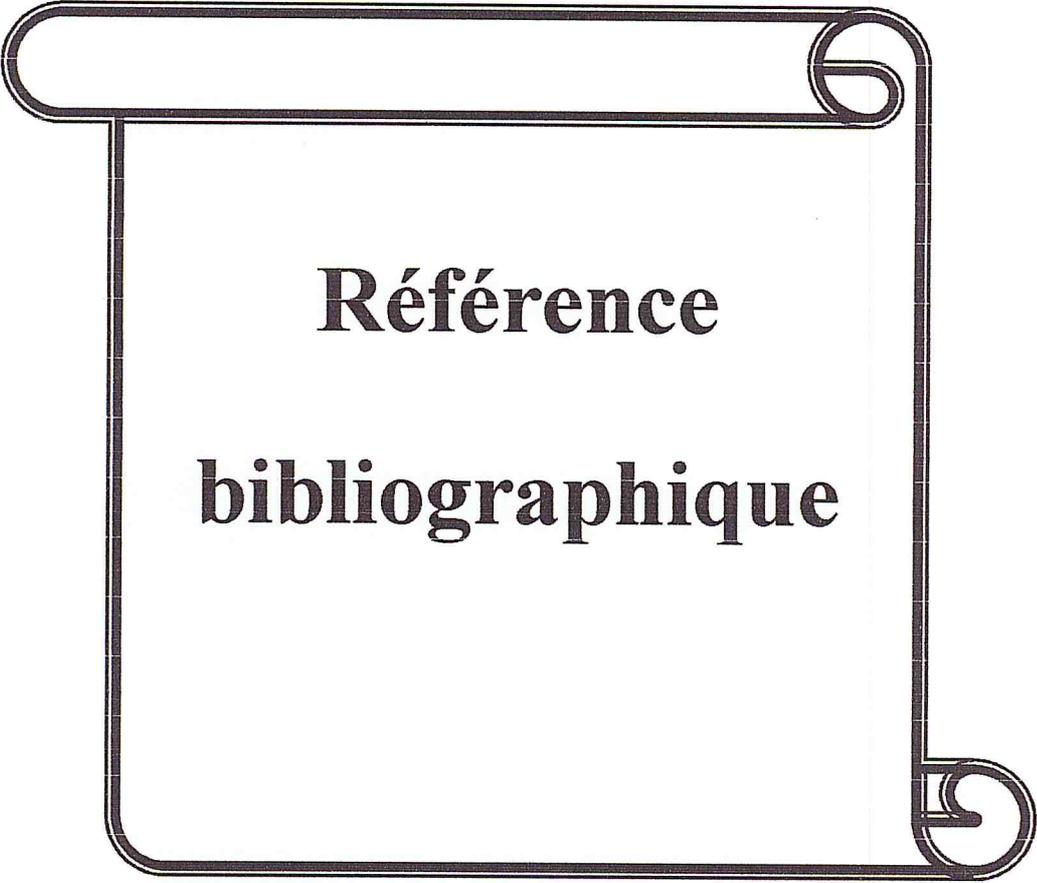
La combinaison des pourcentages des composés formant le mélange a été établie en considérant différentes possibilités (i) produits majoritaires (ii) deux produits majoritaires, (iii) l'existence des composés avec la même proportion.

Pour les trois étalons camphre, carvone et thymol les meilleurs paramètres analytiques de calibrage sont obtenus en considérant les bandes séparées à 1737, 1669 et 3589 cm⁻¹ respectivement et le mode d'intégration R.

Pour le limonène, la bande d'absorbance la moins interférée à 2836 cm⁻¹ a été utilisée. Pour éliminer cette interférence, deux modes de calibration PLS ont été testés, soit le mode d'intégration I pour le spectre d'ordre zéro ou le mode de calibration B pour le spectre de la 1^{ère} dérivé.

L'analyse des échantillons réels par PLS-IRTF montre globalement des valeurs comparables entre les teneurs théoriques et prédites par le modèle de calibration développé et ce, avec un pourcentage de récupération qui varie entre 90 et 110% et une faible précision d'analyse.

La différence des teneurs théoriques et prédites trouvée, ceci pourrait avoir deux explications (a) ou les espèces considérées dans cette étude sont de natures différentes des espèces des travaux scientifiques utilisés comme référence. (b) ou la prédiction par excès indique la présence d'autres monoterpènes qui pourront avoir le même environnement chimique que le monoterpène de notre étude au niveau du groupement fonctionnel sélectionné .



**Référence
bibliographique**

Références bibliographiques

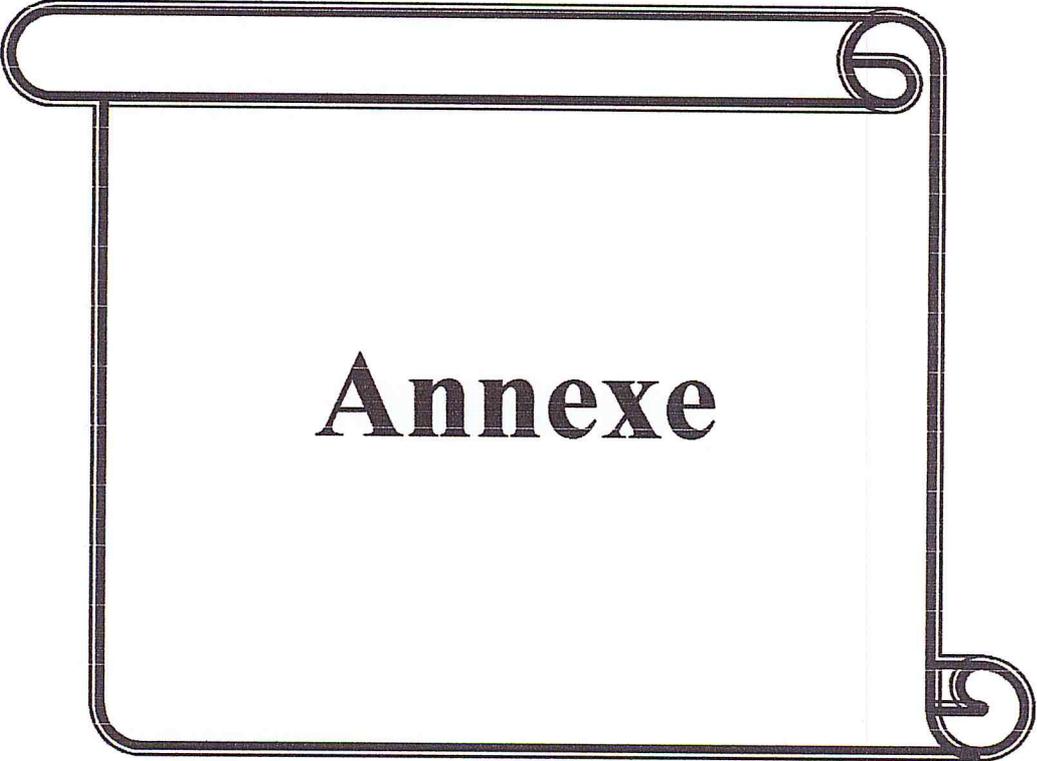
1. J.Lynch « Analyse physico-chimique des catalyseurs industriels: manuel pratique de caractérisation », (2001).
2. Christian Ducauze « Chimie analytique, analyse chimique et chimométrie : Concepts, démarche et méthodes », (2014).
3. L. Fatela « Utilisation de la spectroscopie proche infrarouge comme un outil PAT pour la quantification de substances en solution », thèse de doctorat, université Joseph Fourier UFR de pharmacie de Grenoble, (2012).
4. C. Maria Simonescu, « Application of FTIR Spectroscopy in Environmental Studies », licence Creative Commons Paternité, (2012).
5. M. Dubernet, 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'OEnologie - mars/avril -N° 181, (2000) .
6. F. Moser-Boroumand, « Spectroscopie FTIR quantitative de réflectance et transmittance diffuses », thèse de doctorat, école polytechnique fédérale Lausanne, (1991).
7. J. Joseph-Charles, M. Bertucat, P. Levillain, « intérêt de la spectrophotométrie dérivée pour l'identification d'une substance », bull. soc. pharm. Bordeaux, (1997).
8. F. Rouessac, A. Rouessac, D. Cruché « Analyse Chimique Méthodes Et Techniques Instrumentales Modernes», 6eme édition. (2004).
9. Jr D.R. Lide, « status report on critical compilation of physical chemical data » annual review of physical chemistry, v, 24 (1973).
10. A.H. Letting. « Infrared technology and applications » SPIE-Proceeding, Ed. Belling WA, London, UK, V.1320, (1990).
11. Y. Dahbouche, S. Garrigues, M. Teresa Vidal, M. De la Guardia, « Flow injection FTIR determination of caffeine in soft drink », anal. Chem 69 (1997), 1086-1091.
12. Y. Roggo, « Détermination de la qualité de la betterave sucrière par spectroscopie proche infrarouge et chimométrie », Thèse de doctorat, université de Lille, (2003).
13. D. Bertrand, E. Dufour « La spectroscopie infrarouge et ses applications analytiques », (2006).

14. J. SIEBERT KARL, « Chemometrics in brewing-a review », journal of the American society of brewing chemists ,Food Science and Technology Department, Cornell University, Geneva, vol. 59 (2001), 147-156.
15. 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).
16. J. EL HADDAD, « Chimie appliquée à la spectroscopie de plasma induit par laser (LIBS) et à la spectroscopie TERAHERTZ », Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1 , (2013).
17. M. Younis Talpur et al, « 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 journal,(2014).
18. A. Durand, « Méthodes de sélection de variables appliquées en spectroscopie proche infrarouge pour l'analyse et la classification de textiles », Thèse de doctorat ,Université des Sciences et Technologies de Lille ,(2007).
19. D.Bertrand, «Chimie », Institut National de la Recherche Agronomique Bioinformatique France, (2008).
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 Analytica Chimica Acta, 185(1986) 1-17.
23. T. Boubellouta, « Apports des spectroscopies infrarouges et de fluorescence couplées à la chimie 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. S. Lifife, « Etude chimique d'huile essentielle de carvi et détermination du taux de la fraction monoterpénique carbonyle de l'extrait de carvi par spectrométrie infrarouge », Mémoire de master, Université Blida1, (2011).
27. L.zekri, « contribution à l'étude chimique des huiles essentielles de menthe, d'Eucalyptus et de thym, dosage du menthol dans la menthe et d'Eucalyptol dans l'Eucalyptus par spectrométrie IRTF », Mémoire de master, Université Blida1, (2011).
28. M. Malecky, « Métabolisme Des Terpénoïdes Chez Les Caprins », Thèse de doctorat, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech), (2006).
29. R. Ayad, « Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : ZYGOPHYLLUM CORNUTUM », Mémoire de magister, Université Mentouri de Constantine, (2008).
30. A.El haïb, « Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques », thèse de doctorat université de TOULOUSE, (2011).
31. BiBTeX, EndNote, RefMan, «Limonene-containing mating disruptant and mating disruption method use the same», brevet numéro WO 2013034599 A1, (2013).
32. D.Bégin, M. Gérin, « La substitution des solvants par le d-limonène », Département de médecine du travail et d'hygiène du milieu, Université de Montréal, (2000).
33. G. Russell Danner, « Composition d'huile contenant du carvone utilisée sur des animaux aquatiques et des amphibiens » brevet numéro WO 2011109341 A2, (2011).
34. P. Nicholas Davey, et al, «Preparation of carvone», brevet numéro WO 2000058253 A1, (2000).
35. K. Koba, K. Sanda, K. Raynaud, J. Millet, J.P. Chaumont « Composition chimique des huiles essentielles d'aeollanthus pubescens Benth. Acclimatée au Togo », B. R. Chimie, 7 (2004).
36. F. Amarti et al, « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de thymus algeriensis Bios. et Reut. et thymus ciliatus Benth. Du Maroc », Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 14 (1) (2010) 141-148
37. Xianfeng PENG, Zonghua TAN, « thymol et de ses sels ou esters dérivés comme

- additifs pour des applications d'aliments pour animaux », brevet numéro WO 2012116500 A1, (2012).
38. N. Bousbia, «Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de coproduits agroalimentaires», Université d'Avignon; Institut national agronomique (El Harrach, Algérie), (2011).
 39. «Les huiles essentielles », Office fédéral de la santé publique OFSP (2008).
 40. N. Maurice, ND.A, « *Illicium verum* (Anis étoilée / Badiane) », (2013).
 41. A. Padmashree et al, « Star-anise (*Illicium verum*) and black caraway (*Carum nigrum*) as natural antioxidants », *Food Chemistry journal*, (2007).
 42. B. Imelouane et al, « Antibiothérapie de l'huile essentielle de l'Armoise blanche», Communication Affichée (A15), Faculté des Sciences – Kénitra, (2007).
 43. H. K. Bencheqroun, M.Ghanmi, B.Satrani , A. Aafi et A.Chaouch, « Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc», *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 81, 2012 p. 4 – 21.
 44. MAEP UPDR – OCEAN CONSULTANT, « Filiere Plantes A Epices», Filières de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, et Actions du Ministère de l'Agriculture, de l'Elevage et de la Pêche, (2004).
 45. C. Zhao, L. Lin , « The specific antibacterial activity of liposome-encapsulated Clove oil and its application in tofu Haiying Cui », *School of Food & Biological Engineering, Jiangsu University,China* (2013).
 46. R. Fang , C. Hong Jiang , X.Y.Wang et al , « Insecticidal Activity of Essential Oil of *Carum Carvi* Fruits from China and Its Main Components against Two Grain Storage Insects», *journal molecules* , (2010) 15, 9391-9402.
 47. M. Aetheroleum, « Huile Essentielle De Myrte», *Pharmacopée française*, (2013).
 48. I.Bajalan, M. Akbarzadeh , F. Veysanlu, « Chemical Composition of Myrtle Essential Oil (*Myrtus Communis* L.) In Gilane Gharb from Iran», *World of Sciences Journal*, Volume: 1 Issue: 5(2).
 49. F. Atik Bekkara et al, « Composition chimique d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen», *journal Biologie & Santé* vol. 7, n° 1, (2007).

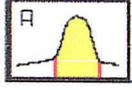
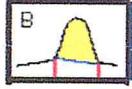
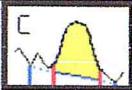
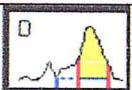
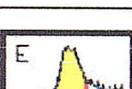
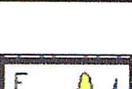
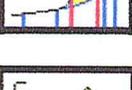
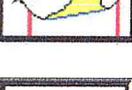
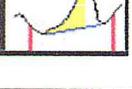
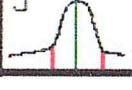
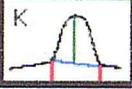
50. F. Amarti et al, « Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. Et *Thymus ciliatus* (Desf.) Benth. du Maroc», *Biotechnol. Agron. Soc. Environ journal*, (2010) 14(1).
51. A. Beauchesne et al, «L'huile essentielle d'orange », Cégep de Granby, (2006).
52. M.A. Ferhat et al, «An improved microwave Clevenger apparatus for distillation of essential oils from orange peel», *Journal of Chromatography A*, 1112 (2006).
53. 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).
54. J. kuligowski et al, «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.
55. S. Armenta, 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.
56. Z. Bouhsain, S. Garrigues, M. De la Guardia, « simultaneous stopped-flow determination of paracetamol, Acetylsalicylic Acid and Caffeine in Pharmaceutical formulations by Fourier Transform Infrared Spectrometry With Partial Least-Squares Data Treatment », *the analyst journal*, (1996), vol, 121, (1935-1938).
57. Y.B. Che Man a et al, « Analysis of potential lard adulteration in chocolate and chocolate products using Fourier transform infrared spectroscopy», *Food Chemistry journal* 90 (2005) 815–819.
58. A. Rohman et al, «Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy », *Meat Science journal* 88, (2011).
59. Si Mohamed, «Comparaison entre la calibration monovariante et multivariante (PLS-IRTF) : Détermination simultanée du Thymol, Eucalyptol, Camphre et Menthol», mémoire de Master, Département de Chimie, Université Blida 1 (2013-2014).
60. N.B. Thippeswamy et al, « Antioxidant and antibacterial properties of phenolic extract from *Carum carvi L.* », *journal of pharmacy research*, (2013).

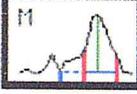
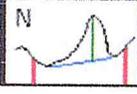
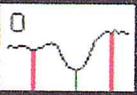
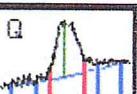
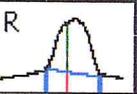
A decorative border in the shape of a scroll, with a thick black line. The top edge is rounded on the left and has a small scroll-like flourish on the right. The bottom edge is rounded on the right and has a larger scroll-like flourish on the left. The word "Annexe" is centered within this border.

Annexe

Annexe

Tableau 34 : Modes d'intégration de logiciel OPUS 6.5

	<p>A) L'intégrale est limitée par le spectre, par l'axe des X et par les limites paramétrées.</p>
	<p>B) L'intégration est calculée par rapport à une ligne de base locale reliant les deux fréquences paramétrées.</p>
	<p>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.</p>
	<p>D) La ligne de base est définie horizontalement par le point de ligne de base préalablement paramétré.</p>
	<p>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 2e et 3e point de ligne de base.</p>
	<p>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.</p>
	<p>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.</p>
	<p>H) Calcul de la surface délimitée par le minimum gauche et le maximum.</p>
	<p>I) Calcul de la surface délimitée par le maximum et le minimum droit.</p>
	<p>J) Intensité absolue maximale de la bande.</p>
	<p>K) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base locale.</p>
	<p>L) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base paramétrée.</p>

	<p>M) Intensité de la bande par rapport à une ligne de base horizontale.</p>
	<p>N) Intensité de la bande par rapport à la ligne de base reliant les deux minima.</p>
	<p>O) Minimum entre les deux limites paramétrées.</p>
	<p>P) Intensité à la fréquence paramétrée.</p>
	<p>Q) Intensité par rapport à la ligne de base.</p>
	<p>R) Intensité maximale à une fréquence donnée</p>

