



جامعة بجاية  
Tasdawit n'Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université A.MIRA-BEJAIA  
Faculté de Technologie  
Département de Génie des Procédés

# Mémoire de Master

Présenté par

M<sup>elle</sup> Ibrahim Hanane & M<sup>elle</sup> Ouazine Yasmina

Pour l'obtention du Diplôme de Master  
en  
**Génie des Procédés**

Option : Génie chimique

**THEME**

*Utilisation de la spectrophotométrie UV-visible  
pour l'étude de l'extraction solide-liquide du thym*

Soutenu le : 26/06/2014

Encadrés par :

M<sup>me</sup> A. Senhadji

M<sup>r</sup> A. Kachbi

Année Universitaire 2013/2014

# *Remerciements*

Nous remercions dieu pour le courage, la patience et la santé qui nous ont été utiles tout au long de notre parcours.

Nous tenons à remercier nos promoteurs M<sup>r</sup> KACHBI et M<sup>me</sup> Senhadji pour avoir accepté de nous encadrer, les innombrables discussions que nous avons partagés ont toujours été enrichissantes. Merci pour le temps que vous nous avez consacré, pour votre patience et vos explications éclairées, et vos encouragements.

Notre sincère gratitude va aussi aux membres du jury à M<sup>me</sup> BALKACEMI H., M<sup>elle</sup> AITALI S., d'avoir accepté de juger ce présent travail.

Nous remercions aussi le technicien du laboratoire d'analyse M<sup>r</sup> BOUHALI pour sa contribution et son aide.

Nous tenons à remercier tous les enseignants qui ont assistés à notre formation surtout l'option Génie Chimique. Enfin, à toutes personne ayant aidées de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

# Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mes adorables parents

A mes chers frères : Sofiane et Idir

A ma chère sœur : Saloua

A toute ma famille

A ma binôme Hanane et sa famille

A tous mes amis

A tous mes camarades de promotion avec lesquelles j'ai partagé mes années.

Yasmina

# Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*A la mémoire de mon père, que dieu le tout puissant l'accueille en son vaste paradis.*

*A toi douce maman que dieu te bénisse*

*A mes frère : Nabil, Mouhand, Farid*

*A mes sœurs : Sonia et cilia*

*A mes amis (es) intimes : Sonia, Nawet, Nouara, Sadika, Kahina, Hadjira, Farouk*

*A ma binome Yasmina et sa famille.*

*A toutes personnes que je connais.*

*Hanane*

## Liste des abréviations

**A** : Absorbance.

**AI** : Absorbance correspond à Banded'absorption I.

**AII** : Absorbance correspond à Banded'absorption II.

**AIII** : Absorbance correspond à Banded'absorption III.

**B** : Basse concentration en  $\text{CaCl}_2$ .

**BI** : Banded'absorption I.

**BII** : Bande d'absorption II.

**BIII** : Banded'absorption III.

**CPG** : Chromatographie en phase gazeuse.

**ED** : Eau distillée.

**ES** : Eau de source (Djurdjura).

**Eth**: Ethanol.

**H** : Haute concentration en  $\text{CaCl}_2$ .

**Hex**: Hexane.

**HPLC** : La chromatographie liquide à haute performance.

**IR** : spectroscopie Infra-Rouge.

**RMN** : Résonance magnétique nucléaire.

**R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>** : Les radicaux de la structure chimique de la molécule. **T** : Température.

**t** : temps.

**UV** : ultra-violet.

## LISTE DES FIGURES

**Figure I.1 :** Plante du Thym.

**Figure I.2 :** Structure nucléaire (chimique) des flavonoïdes.

**Figure I.3 :** Structure nucléaire (chimique) des flavones ( de01 à 4).

**Figure I.4 :** Structure nucléaire des flavones ( de11 à 14).

**Figure I.5 :** Structure nucléaire (chimique) des flavanols ( de17 à 20).

**Figure I.5 :** Structure nucléaire (chimique) des flavanones ( 22).

**Figure I.6 :** Structure nucléaire (chimique)des flavonoïdes glycosylés ( de 24 à 26 ).

**Figure I.7 :** Structure nucléaire (chimique) des flavonoïdes glycosylés (26).

**Figure I.8 :** La molécule d'isoprène.

**Figure I.9 :** Les structures des monoterpènes de 27à 30.

**Figure I.10 :** Extracteur soxhlet.

**Figure I.11 :** Extracteur assisté par ultrason

**Figure I.12:** Schéma d'un système d'extraction Likens-Nickerson.

**Figure I.13:** Schéma du système d'extraction CO<sub>2</sub>des solides.

**Figure I.14:**Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse.

**Figure I.15:** Principe de fonctionnement d'un chromatographe HPLC.

**Figure I.16:** Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau.

**Figure I.17:** lampe UV au deutérium.

**Figure I.18:** Monochromateur à réseau.

**Figure I.19:** photomultiplicateur.

**Figure I.20:** photodiode.

**Figure II.1 :** Feuilles de thym avant infusion.

**Figure III.1 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion  $T=70^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g.

**Figure III.2 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à  $T = 70^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.3 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différents durée d'infusion (Température= $80^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse de tu thym=0,1g).

**Figure III.4 :** Cinétique d'infusion du thym avec l'eau Djurdjura à  $T = 80^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.5 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différents durée d'infusion (Température= $85^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse de tu thym=0,1g).

**Figure III.6 :** Cinétique d'infusion du thym avec l'eau Djurdjura à  $T=85^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.7 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différents durée d'infusion (Température= $90^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse de tu thym=0,1g).

**Figure III.8:** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau de Djurdjura à  $T= 90^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.9:** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différents durées d'infusion (Température= $95^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g).

**Figure III.10 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à  $T = 95^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.11:** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion (Température= $99^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g).

**Figure III.12 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à  $T = 99^{\circ}\text{C}$ .

**Figure III.13 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes températures d'infusion. (Durée= 1 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g).

**Figure III.15:** Spectre d'absorptions des liqueurs de thym à différents températures. (Durée= 5 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g).

**Figure III.16:** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différents températures. (Durée= 10 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g).

**Figure III.17 :** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différents températures. (Durée= 10 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g).

**Figure III.18 :** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différente qualité d'eau (T= 70°C, t= 3 min, m= 0,1 g).

**Figure III.19:** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différente qualité d'eau (T= 70°C, t= 10 min, m= 0,1 g).

**Figure III.20:** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différente qualité d'eau (T= 95°C, t= 10 min, m= 0,1 g).

**Figure III.21:** Spectre d'absorption UV obtenu par des liqueurs de thym en utilisant l'hexane et éthanol à température 80°C, volume de 50 ml.



## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau I.1 :** Localisation des principales espèces du thym en Algérie.

**Tableau I.2 :** Quelques flavonoïdes isolés d'espèces du thym.

**Tableau II.1 :** Eaux utilisées.

**Tableau II.2 :** Réactifs utilisés.

**Tableau III. 1:** Les variations des absorbances par unité de temps.

**Tableau III.2 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées.

**Tableau III.3 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T= 80°C.

**Tableau III.4 :** Résultats des rapports d'absorbances maximale à différentes durées.

**Tableau III. 5 :** Les variations des absorbances maximale par unités de temps à T= 85°C.

**Tableau III.6 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées.

**Tableau III. 7 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T= 90°C.

**Tableau III. 8 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées.

**Tableau III.9 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T= 95°C.

**Tableau III.10 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées.

**Tableau I.11 :** Les variations des absorbances par unité de temps à T= 90°C.

**Tableau III.12 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées.

**Tableau III.13 :** Valeurs de pH et de conductivités liqueur de thym et l'eau de source.

# ***SOMMAIRE***

---

## Chapitre I

### Synthèse bibliographique

<b>Introduction générale</b> .....	1
<b>I.1. Thym</b> .....	3
I.1.1. Généralités .....	3
I.1.2. Caractéristique botanique.....	3
I.1.2.1. Description.....	3
I.1.2.2. Classification.....	4
I.1.3. Distribution géographique .....	4
I.1.3.1. Dans le monde.....	4
I.1.3.2. En Algérie .....	5
I.1.4. Usage traditionnel du Thym.....	6
I.1.5. Propriétés du thym .....	6
I.1.6. Principes actifs du thym.....	7
I.1.7. Caractère chimique du thym .....	7
I.1.7.1. Flavonoïdes .....	7
I.1.7.2. Les terpènes .....	11
I.1.7.3. Les acides phénoliques .....	12
I.1.7.4. Les tannins .....	13
<b>I.2. Méthodes d'extractions</b> .....	13
I.2.1. Extraction solide-liquide.....	13
I.2.1.1. Infusion .....	13
I.2.1.2. La macération.....	14
I.2.1.3. Décoction .....	14
I.2.1.4. La digestion.....	15
I.2.1.5. Lixiviation (l'extrait fluide).....	15
I.2.1.6. La percolation .....	15
I.2.2. Autres formes d'extractions.....	15
I.2.2.1. Extraction au Soxhlet.....	15
I.2.2.2. Extraction par ultra-sons .....	17
I.2.2.3. Extraction par Likens-Nickerson .....	18
I.2.2.4. Extraction par fluide à l'état supercritique.....	18

<b>I.3. Méthodes d'analyses.....</b>	<b>19</b>
I.3.1. Chromatographie en phase gazeuse .....	19
I.3.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	20
I.3.2.1. Principe d'analyse chromatographique.....	20
I.3.3. Chromatographie sur couche mince.....	21
I.3.3.1. Appareillage .....	21
I.3.3.2. Principe de la technique .....	22
I.3.4. Résonance magnétique nucléaire (RMN) .....	22
I.3.5. spectroscopie Infra-Rouge (IR).....	22
I.3.6. La spectrophotométrie UV-Visible.....	23
I.3.6.1. Définition : .....	23
I.3.6.2 Principe de la spectrophotométrie UV-visible.....	23
I.3.6.3. Appareillage .....	25
I.3.6.4. Applications .....	26
I.3.6.5. Principe d'étalonnage.....	27
<b>CHAPITRE II</b>	
<b>MATERIEL ET METHODES</b>	
<b>II-1. Appareillages et logiciels utilisés .....</b>	<b>28</b>
<b>II-2 Matériels et produits.....</b>	<b>28</b>
II.2.1 Matériel utilisés .....	28
II.2.2 Matière végétal (Thym) .....	29
II.2.3 Eaux utilisées .....	29
II.2.3. Réactifs .....	30
<b>II.3. Préparation des solutions.....</b>	<b>31</b>
<b>II.4 Préparation des liqueurs de thym.....</b>	<b>31</b>
<b>II.5.les paramètres étudiés dans la méthode d'extraction par infusion ..</b>	<b>32</b>
II.5.1. Effet du temps sur l'infusion du thym dans l'eaux distillée et l'eau Djurdjura.....	<b>32</b>
II.5.2 Effet de la température sur l'infusion du thym dans l'eau distillée et l'eau Djurdjura .....	32
II.5.3 Effet de la qualité de l'eau utilisée sur l'infusion du thym.....	32
II.5.4. Variation du pH et de la conductivité des liqueurs de thym.....	32

**II.6 Extraction par solvant organique « Soxhlet» ..... 32****CHAPITRE III****RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSIONS****III.1. Infusion du thym dans l'eau de source « Djurdjura » ..... 33**

III.1.1. Effet de la durée d'infusion ..... 33

III.1.1.1. Infusion à T=70°C ..... 33

III.1.1.2. Infusion à T=80°C ..... 36

III.1.1.3. Infusion à T=85°C ..... 38

III.1.1.4. Infusion à T= 90°C ..... 41

III.1.1.5. Infusion à T=95°C ..... 43

III.1.1.6. Infusion à T=99°C ..... 46

III.1.2. Effet de la température d'infusion..... 48

III.1.2.1. Infusion à t = 1 min ..... 48

III.1.2.2. Infusion à t= 3 min ..... 50

III.1.2.3. Infusion à t= 5 min ..... 50

III.1.2.4. Infusion à t= 10 min ..... 51

III.1.2.5. Infusion à t= 15 min ..... 52

III.1.3. Variations du pH et de conductivité électrochimique des liqueurs  
de thym ..... 53**III.2. Effet de la qualité de l'eau sur l'infusion de thym ..... 53**

III.2.1. Spectres d'absorption UV des liqueurs de thym à différentes qualités

D'eaux à la température T= 70°C et à deux durées d'infusion (t= 3 min et t= 10  
min)..... 53

III.2. Extraction de thym par « Soxhlet » ..... 57

III.2.1 : Effet de solvant organique ..... 57

**Conclusion générale ..... 59****Références bibliographiques.....61**

# ***INTRODUCTION GENERALE***

## Introduction générale

De nos jours, les méthodologies analytiques sont de plus en plus développées pour la séparation, l'identification et la quantification de mélanges complexes. Dans un contexte législatif de plus en plus strict, la caractérisation physico-chimique complète des produits de différentes origines, devient incontournable. De grands besoins sont invoqués dans la caractérisation et l'identification de nouvelles substances. D'autres besoins de recherche analytique sont générés par la perspective de pouvoir valoriser les produits naturels pour la santé.

Depuis des milliers d'années, les plantes aromatiques et médicinales (PAM) ont suscité beaucoup d'intérêt dans le domaine thérapeutique. En effet, les substances naturelles extraites de ces plantes ont permis de grandes avancées en raison de leur valeur ajoutée dans la préparation de nombreux produits en particulier dans les domaines pharmaceutiques et cosmétiques [1]. Les industriels sont obligés d'innover sur le plan technologique et d'améliorer l'efficacité énergétique et environnementale de leurs procédés, grâce au développement d'une chimie dite verte en remplacement des procédés chimiques traditionnels [2].

Vu cette richesse du monde végétal, notre travail s'intéresse à la plante médicinale ; thym qui était considéré comme l'«ennemi du poison». Le choix de cette plante est basé sur l'importance de la famille "des lamiacées", dont elle fait partie. Ces composés sont connus d'une part, pour leur richesse en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes...) tout en sachant que ces derniers sont produits exclusivement par les plantes et d'autre part pour leur usage traditionnel connu afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies fréquentes chez les populations [3].

L'objectif de notre travail est l'étude de l'extraction solide-liquide de la plante de thym et la caractérisation des composés extraits par une méthode d'analyse simple qui est la spectroscopie UV-Visible. L'intérêt est d'essayer de tirer le maximum d'information sur ces extraits sans faire appel à des méthodes d'analyse plus sophistiquées et habituellement utilisée, comme la HPLC.

Deux méthodes d'extraction ont été explorées dans ce travail, à savoir :

- L'infusion du thym dans l'eau avec l'étude de l'influence de certains paramètres comme le rapport masse du thym / masse de l'eau, le temps d'infusion, la température et la qualité de l'eau utilisée pour l'infusion.
- l'extraction par « Soxhlet » en utilisant deux solvants organiques : l'hexane et l'éthanol. L'hexane est un solvant non-polaire, qui peut extraire un grand nombre de composants présents dans l'huile essentielle. L'éthanol est connu comme étant un bon solvant d'extraction des composés polaires tels que les composés phénoliques. Ces deux solvants ont été choisis en raison de leurs polarités opposées permettant l'extraction de différents types de composés (non polaires et polaires).

Notre manuscrit est réparti en trois chapitres : Le premier est consacré à une recherche bibliographique, qui comporte trois parties : la première partie décrit la plante de thym sa composition chimique et son intérêt. La deuxième présente l'ensemble des méthodes d'extraction solide-liquide, et la troisième traite des généralités sur la spectrophotométrie UV-visible, son domaine d'application et l'appareillage utilisé.

Le deuxième chapitre décrit le matériel, les différentes étapes étudiées et les protocoles expérimentaux suivis pour l'extraction du thym.

Le troisième chapitre regroupe l'ensemble des résultats avec leurs discussions.

Les résultats les plus importants et les aboutissements de ce travail, sont regroupés dans la conclusion générale.



**CHAPITRE I**

***SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE***

## Chapitre I

### Synthèse bibliographique

#### I.1. Thym

##### I.1.1. Généralités

L'origine du nom est sujette à diverses interprétations : Thym proviendrait du mot latin "thymus" qui signifie "parfumé" ou du mot grec "thumus" qui signifie "courage" [4]. Le thym originaire du bassin méditerranéen, est une espèce végétale vivace rustique [5], appartient à la famille des labiées, environ 215 espèces sont cultivées dans le monde [6]. Le thym se développe préférentiellement dans les milieux ouverts, secs et ensoleillés, bien drainé et rocailleux (calcaire), sol légèrement acide, mais la plante se développe également sur un sol alcalin filtrant, léger ou compact (d'argile et de limon) ou très poreux (sableux), un peu humide et frais. La capacité de cette plante à résister à de très forte chaleur provient de son huile essentielle qui est produite la nuit et s'évapore la journée, c'est par cette action que la chaleur sera consommée [7].

L'utilisation du thym dans la vie humaine date depuis très longtemps. Aetius qui est un célèbre médecin grec du cinquième siècle, recommandait le thym pour les sciaticues, les douleurs des reins et de la vessie, la colite et les ballonnements, pour les mélancoliques et ceux qui ont un esprit troublé. À l'onzièmesiècle, Hildegarde et Albert le mentionnent contre la lèpre, la paralysie et les maladies nerveuses [4].

Cette plante peut constituer des peuplements purs qui se développent en tâches plus ou moins circulaires [8]. Le thym présente deux polymorphismes : deux types de fleurs (gynodioécie) et une diversité de races chimiques (ou chémotypes) [9].

En Algérie, il est représenté par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination. Citant ainsi quelques espèces connues en Algérie : *T.vulgaris*, *T.serpyllum*, *T.algériensis*, *T.hirtus* et *T.fontanésii* [10].

##### I.1.2. Caractéristiques botaniques

###### I.1.2.1. Description

Le thym est une plante aromatique qui se trouve à l'état spontané, sous l'aspect d'un sous arbrisseau, vivace, touffu et très feuillé, peut atteindre 40 cm de hauteur [11]. Ses racines sont ligneuses, rameuses et tortueuses. Ses tiges, de 10 à 30 centimètres, sont ligneuses à la base, herbacées au sommet, très diffuses. Ses feuilles sont de forme variées : linéaires ou lancéolées ou de forme elliptique, la feuille jeune est recouverte de poils courts et denses. Ses fleurs sont roses, visibles de juin à octobre, sont réunies en glomérules figure I.1. Le Thym se récolte de mai à juillet [12].



**Figure I.1 :** Plante du Thym

### **I.1.2.2. Classification**

Ordre : Lamiales

Famille : Lamiaceae

Genre : Thymus

### **I.1.3. Distribution géographique**

#### **I.1.3.1. Dans le monde**

Le thym est une plante originaire de l'ouest des régions méditerranéennes et aussi autochtone du sud d'Europe [13, 14]. Le genre Thym est l'un des 250 genres les plus diversifiés de la famille des labiées [15]. Selon Dob et all [16], il existe près de 350 espèces de thym réparties entre l'Europe, l'Asie de l'ouest et en Amérique du Nord. C'est un genre très répandu dans le nord-ouest africain (Maroc, Algérie, Tunisie et Libye), il pousse également sur les montagnes d'Ethiopie et d'Arabie du sud-ouest en passant par la péninsule du Sinaï en

Egypte [17]. On peut le trouver également en Sibérie et même en Himalaya. Selon une étude menée par Nickavar [18], environ 110 espèces différentes du genre thym se concentrent dans le bassin méditerranéen.

### I.1.3.2. En Algérie

Le thym comprend plusieurs espèces botaniques réparties sur tout le littoral et même dans les régions internes jusqu'aux zones arides [17]. Il est représenté en Algérie par de nombreuses espèces qui ne se prêtent pas aisément à la détermination en raison de leurs variabilités et leur tendance à s'hybrider facilement. Le tableau I.1 montre la localisation des principales espèces de thym en Algérie [19].

**Tableau I.1** : Localisation des principales espèces du thym en Algérie [19].

Espèce	Découverte par	Localisation
<i>Thymus capitatus</i>	Hoffman et Link	Rare dans la région de Tlemcen
<i>Thymus fontanesii</i>	Boiss et Reuter	Commun dans le Tell Endémique Est Algérie- Tunisie
<i>Thymus commutatus</i>	Battandier	Endémique Oran
<i>Thymus numidicus</i>	Poiret	Assez rare dans : Le sous-secteur de l'atlas tellien Le grand et la petite Kabylie De Skikda à la frontière tunisienne Tell constantinois
<i>Thymus guyoni</i>	Noé	Rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois, oranais et constantinois
<i>Thymus lancéolatus</i>	Desfontaine	Rare dans : Le secteur de l'atlas tellien (Terni de Médéa Banchicao et dans le sous-secteur des plateaux algérois, oranais (Tiaret) et constantinois

Thymus pallidus	Coss	Très rare dans le secteur de l'Atlas Saharien et constantinois
Thymus hirtus	Willd	Commun sauf sur le littoral
Thymus glandulosus	Lag	Très rare dans le sous-secteur des hauts plateaux algérois
Thymus algériensis	Boiss et Reuter	Très commun dans le sous-secteur dans les hauts plateaux algérois, oranais
Thymus manbyanus	Boiss et Reuter	Endémique dans les secteurs Nord algérois

#### I.1.4. Usage traditionnel du thym

Le thym est utilisé fréquemment par les populations autochtones grâce à ses diverses propriétés importantes. Citant ci-dessous les plus connues et appliquées: C'est une plante aromatique très odorante, a une saveur amère et chaude, utilisée dans la cuisine algérienne et en phytothérapie [20- 23], recommandée contre tous les types de faiblesse et indiquée pour les crampes d'estomac, les inflammations pulmonaires et les palpitations, ainsi que les infections de la bouche, les contusions (lésion produite par un choc sans déchirure de la peau), et les accidents articulaires [24]. Il est considérée aussi comme l'un des remèdes populaires les plus utiles et efficaces, dans le traitement des infections respiratoires : rhume, grippe, et angine [25, 26].

Il contribue également dans le nettoyage et la cicatrisation des plaies, et aussi l'expulsion des gaz intestinaux [27]. Les infusions du thym sont appliquées pour le traitement de plusieurs maladies de la circulation sanguine et les troubles digestifs et contre la toux et en décoction pour guérir les maux de tête [28]. Il est aussi exploité par la parfumerie et l'industrie pharmaceutique.

#### I.1.5. Propriétés du thym

- Assaisonnement des aliments et des boissons.
- Antiseptique, désinfectant dermique et un spasmolytique bronchique dont il est indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures.

- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicide [29].
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes dont une étude récente a montré que les extraits méthanoliques et hexaniques des parties aériennes de *Thymus vulgaris* inhibent la croissance de *Mycobacterium tuberculosis* (bactérie qui cause la tuberculose) [30].
- Propriétés anthelminthiques [31].
- Propriétés anti oxydantes [32, 33], en raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons *Thunnus* durant leur stockage [34].

### I.1.6. Principes actifs du thym

Le thym est constitué de trois familles de principes actifs qui sont:

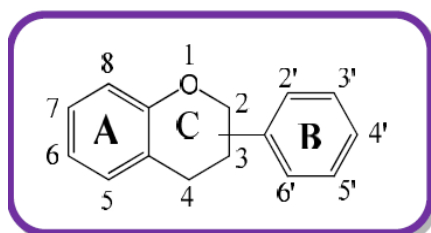
- **Les acides phénoliques** : acide caféique [35], acide rosmarinique [32]
- **Les flavonoïdes** : hespéridine, eriotréicine, narirutine [32], lutéoline [36]
- **Les polyphénols** : tanins [35, 37]

### I.1.7. Caractère chimique du thym

Un grand nombre d'espèces de thymus ont fait, à ce jour, l'objet d'études chimiques et de très nombreux métabolites secondaires ont été isolés. Les travaux photochimiques effectués sur le thym ont permis l'isolement, de flavonoïdes et de terpènes.

#### I.1.7.1. Flavonoïdes

Ils constituent le plus large groupe des phénols dans la plante. Près de 4000 flavonoïdes ont été décrits [38], ces pigments sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles aussi sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV [39].



**Figure I.2 :** Structure nucléaire (chimique) des flavonoïdes [40]

Ces molécules ont un poids moléculaire faible, sont composées de 15 atomes de carbones arrangés comme suit : C6-C3-C6 [41]. Ils sont structurés en deux noyaux aromatiques A et B, liés par un pont de 3 carbones souvent sous forme d'un hétérocycle [42]. La structure des (flavonoïdes) formant une structure de type diphenylpropane dont des groupements hydroxyles, oxygènes, méthyles, ou sucres peuvent être rattachés [43, 44].

Les flavones, et les flavonols sont les plus connus grâce à leur pouvoir antioxydant élevé, et les plus divers sur le plan structural.

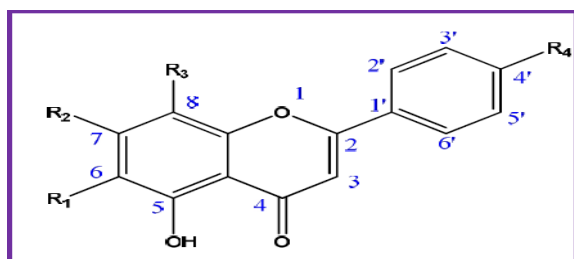
Les substitutions touchant les noyaux A ou B qui peuvent parvenir dans chaque classe des flavonoïdes sont : une oxydation, alkylation, glycosylation, acylation, et sulfation. Le tableau I.2 rassemble un nombre d'espèces du thym, et leur contenu flavonique.

**Tableau I.2 :** Quelques flavonoïdes isolés d'espèces du thym

Espèce	Composé isolé	n <sup>o</sup>	Référence
Thymus vulgaris	Acacétine	<u>2</u>	[45]
	Hispiduline	<u>4</u>	
	Cirsimaritine	<u>5</u>	
	Xanthomicrol	<u>6</u>	
	Scutellarine	<u>9</u>	
	Cirsilinéol	<u>13</u>	
	Thymonine	<u>15</u>	
	8-methoxycirsilinéol	<u>16</u>	
	Kampférol	<u>17</u>	
	Quercétine	<u>18</u>	
Thymus serpyllum	Rutine	<u>24</u>	[45]
	Acacétine	<u>2</u>	
	Genkwanine	<u>3</u>	
	Hispiduline	<u>4</u>	
	Xanthomicrol	<u>6</u>	
	Scutellareine	<u>9</u>	
	Lutéoline	<u>11</u>	
	Thymonine	<u>15</u>	
8-methoxycirsilinéol	<u>16</u>		

Thymus serpyllum	Quercétine	<u>18</u>	[45]
Thymus algeriensis	Kampférol	<u>17</u>	[46]
	Quercétine	<u>18</u>	
	Isorhamnétine	<u>19</u>	
	5,3'-di-hydroxy-3,7,4',5'- tetraméthoxyflavone	<u>21</u>	
	Galangin	<u>20</u>	
	Chrysine	<u>10</u>	
Thymus hirtus	Apigénine	<u>1</u>	[47]
	Lutéoline	<u>11</u>	
	Diosmétine	<u>12</u>	
Thymus herba barona	Genkwamine	<u>3</u>	[48]
	Xanthomicrol	<u>6</u>	
	Sorbifoline	<u>7</u>	
	Thymusine	<u>8</u>	
	Cirsilinéol	<u>13</u>	
	Cirsiliol	<u>14</u>	
	8-méthoxycirsilinéol	<u>16</u>	
	Naringénine	<u>22</u>	
	Eriodictyol	<u>23</u>	
Thymus capitatus	Lutéoline-7 rutinoside	<u>25</u>	[49]
	Vicenin-2	<u>26</u>	

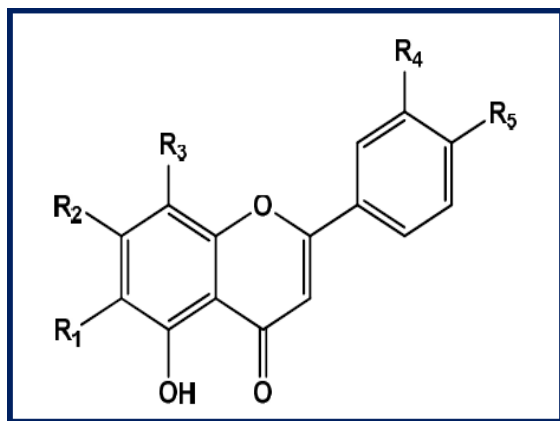
a) **Flavones** : Les structures de 01 à 16 sont les suivantes



	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
<u>1</u>	H	OH	H	OH
<u>2</u>	H	OH	H	OCH <sub>3</sub>
<u>3</u>	H	OCH <sub>3</sub>	H	OH
<u>4</u>	OCH <sub>3</sub>	OH	H	OH

**Figure I.3:** Structure nucléaire (chimique) des flavones (de 01 à 4)

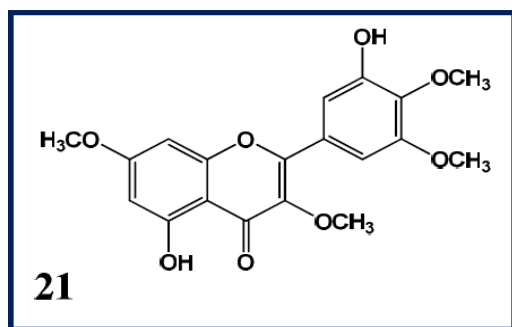




Structure	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
<b>11</b>	H	OH	H	OH	OH
<b>12</b>	H	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>
<b>13</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>14</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	OH	OH
<b>15</b>	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>16</b>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH

**Figure I.4 :** Structure nucléaire (chimique) des flavones (de **11** à **16**)

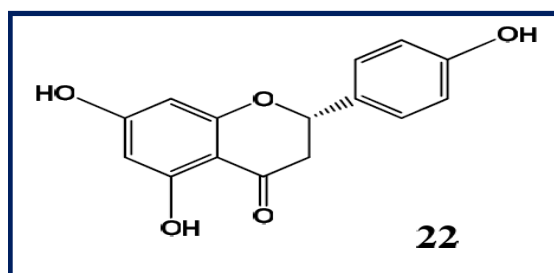
b) **Flavanols** : Les structures des flavanols de **17** à **21** sont les suivantes :



Structures	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<b>17</b>	H	OH
<b>18</b>	OH	OH
<b>19</b>	OCH <sub>3</sub>	OH
<b>20</b>	H	H

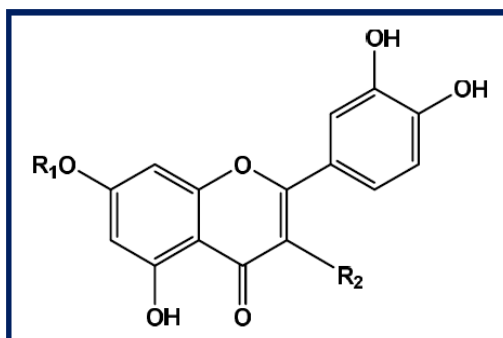
**Figure I.5 :** Structure nucléaire (chimique) des flavanols (de **17** à **20**)

c) **Flavanones** : Les structures des flavanones **22** et **23** sont les suivantes

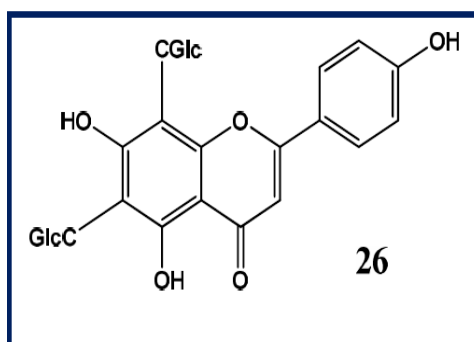


**Figure I.5:** Structure nucléaire (chimique) des flavanones (**22**)

d) **Flavonoïdes glycosylés** : Les structures de **24** à **26** sont les suivantes



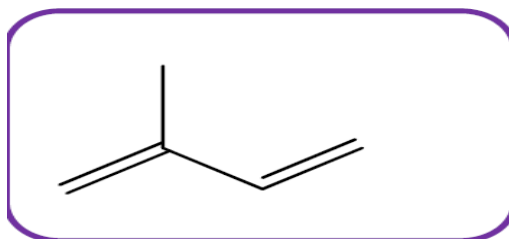
**Figure I.6:** Structure nucléaire (chimique) des flavonoïdes glycosylés (de 24 à 26)



**Figure I.7:** Structure nucléaire (chimique) des flavonoïdes glycosylés (26)

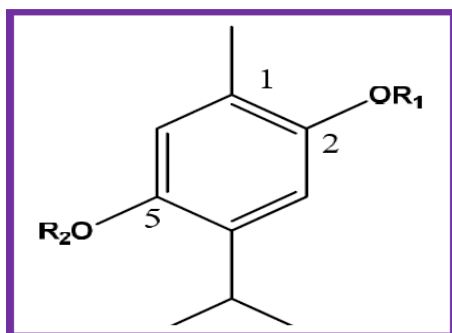
### I.1.7.2. Les terpènes

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure soit cyclique soit à chaîne ouverte leur formule brute est  $(C_5H_x)_n$  dont le  $x$  est variable en fonction du degré d'insaturation de la molécule et  $n$  peut prendre des valeurs (1-8) sauf dans les polyterpènes qui peut atteindre plus de 100 (le caoutchouc). La molécule de base est l'isoprène de formule  $C_5H_8$  (figure I.8). 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.)



**Figure I.8 :** La molécule d'isoprène

Les structures des monoterpènes de 27 à 30 sont les suivantes :



Structures	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>
<u>28</u>	β-D- Glc	H
<u>29</u>	H	β-D- Glc

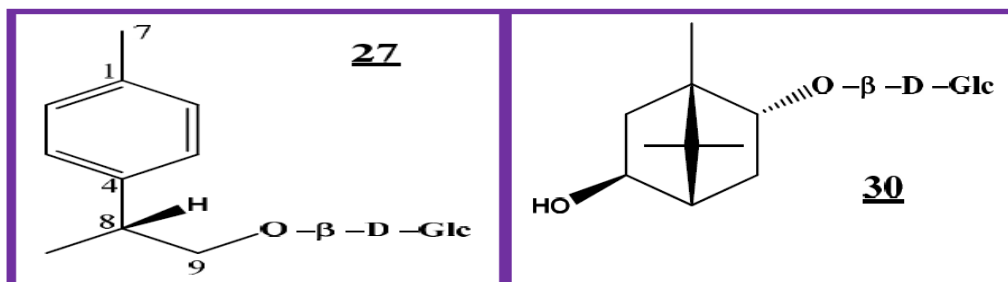
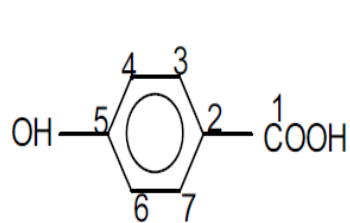


Figure I.9: Les structures des monoterpènes de 27 à 30

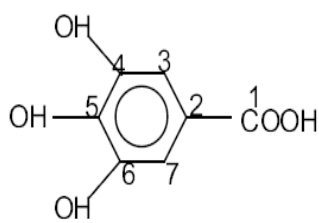
**I.1.7.3. Les acides phénoliques :** Cette classe est divisée en deux sous classes [20]

**a) les hydroxybenzoïques**

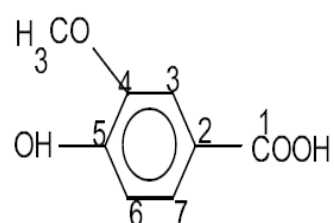
Incluent plusieurs molécules et les plus fréquentes sont : L'acide gallique l'acide vanillique, l'acide syringique et le p-hydroxybenzoïque. Ces composants ont une structure de C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> en commun.



Acide hydroxybenzoïque



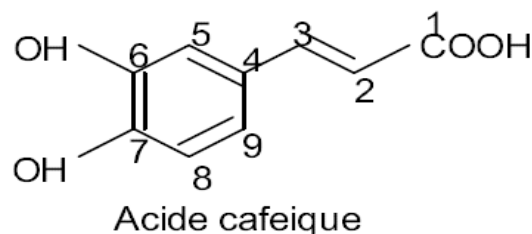
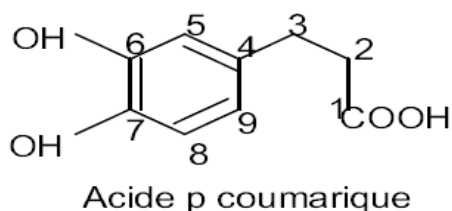
Acide gallique



Acide vanillique

**b) les hydroxycinnamiques**

Ces molécules possèdent un cycle aromatique avec 3 carbones en plus C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>; par exemple : l'acide caféïque, l'acide férulique, p-coumarique, et l'acide sinapique [42].



#### I.1.7.4. Les tannins

Sont des molécules à poids moléculaire relativement élevé, ils constituent le 3<sup>ème</sup> groupe important des composés phénoliques. Les tannins possèdent 2 sous-groupes; tannins hydrolysables et tannins condensés. Les premiers sont esters acide gallique (gallo et ellagi tannins).

Les derniers sont des polymères de polyhydroxyflavan3-ol monomères (aussi connu proanthocyanidine).

Il existe un 3<sup>ème</sup> sous-groupe : les phlorotannins ont été isolés à partir des algues brunes, mais qui ne sont pas inclus dans l'alimentation humaine [50].

## I.2. Méthodes d'extraction

### I.2.1. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide, encore appelée extraction par solvant est une opération de transfert de matière destinée à séparer les principes solubles d'un substrat solide par leur diffusion dans un solvant. Son but est d'extraire, de séparer ou de dissoudre par immersion dans un liquide ou par arrosage par un liquide, un ou plusieurs composants mélangés à un solide. La diffusion est réalisée grâce à l'existence d'un gradient de concentration en soluté à extraire entre la phase solide et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre. Il s'agit normalement d'une opération à pression constante.

L'extraction solide-liquide se présente sous plusieurs variantes (percolation, décoction, infusion et macération) avec comme dénominateur commun de faire interagir le solvant sur le matériau solide pour dissoudre ses composés solubles [51].

#### I.2.1.1. Infusion

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs et/ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide (eau) initialement bouillant que l'on laisse refroidir [52- 55]. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes. C'est la méthode la plus courante connaissant un regain d'intérêt certain grâce notamment à la

phytothérapie, aromathérapie et gemmothérapie s'expliquant par l'attrait de la médecine douce, traditionnelle et aussi par la quête de nouvelles saveurs aromatiques [56].

Le principe de cette méthode consiste à verser de l'eau chaude sur les plantes sèches et on laisse infuser le temps nécessaire. Le temps d'infusion est variable suivant la nature de la plante (de quelques minutes à 1 heure) [57].

Ce procédé s'applique aux feuilles, aux fleurs, aux fruits tendres et aux parties aériennes ainsi qu'à certaines parties corticales et aux racines fragmentées [58].

Attention cependant à ne pas prolonger le temps d'infusion, la tisane devenant astringente car trop chargée en tannins. La solution alors obtenue s'appelle infusion ou infusé [56].

#### **I.2.1.2. La macération**

La macération est une infusion dans un solvant à froid. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est la seule méthode utilisable dans le cas de l'extraction d'un ensemble de molécules fragiles.

Elle s'est basée sur l'utilisation de solvants seuls ou en combinaison choisis en fonction de la famille des composés à extraire. En outre, une matrice peut subir plusieurs extractions successives en utilisant des solvants de plus en plus polaires afin d'obtenir des mélanges enrichis en molécules d'intérêt. Pour être efficace, une macération, peut durer de 30 minutes à 48 heures environ ; ceci peut présenter quelques inconvénients, en termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est l'eau. Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation rapide des molécules actives. En vue d'éviter ou de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et, dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur [59].

Ces techniques ont été optimisées, notamment, pour l'analyse des composés non volatils (polyphénols, sucres, cires) dans les fruits et légumes [60, 61] qu'ils soient comestibles ou non.

#### **I.2.1.3. Décoction**

La décoction est une méthode d'extraction des principes actifs d'une préparation généralement végétale par dissolution dans une eau chauffée à ébullition [55]. Cette méthode convient aux parties ligneuses de la plante comme les tiges, les racines, l'écorce, graines ou baies, qui sont les parties les plus coriaces des plantes, notamment celles renfermant des tanins.

La décoction permet une extraction plus complète que par infusion, elle ne peut s'appliquer à tous les principes actifs car la montée en température pourrait les dégrader ou les modifier. Il faut que les substances extraites ne soient pas thermolabiles, c'est à dire non sensibles à la chaleur [56]. Le principe de cette opération consiste à plonger les parties de plante sèche à froid dans de l'eau et de porter le tout à ébullition pendant 15 à 30 minutes selon les cas [59]. La solution obtenue est appelée décocté.

#### **I.2.1.4. La digestion**

La digestion est une macération à chaud. Cette opération et la macération sont utilisées particulièrement en pharmacie et en parfumerie. Il s'agit là d'une opération plus rapide que la macération, ne posant généralement aucun problème de conservation ni de contamination bactérienne [62, 63].

Cette technique consiste à maintenir en contact la plante avec de l'eau potable à une température inférieure à celle de l'ébullition, mais supérieure à la température ambiante pendant une durée de 1 à 5 heures [56].

#### **I.2.1.5. Lixiviation (l'extrait fluide)**

Cette opération se réalise en général à température ambiante mais sous une pression réduite afin de permettre en même temps d'extraire le maximum de principes actifs mais aussi de les préserver car une partie des composants végétaux sont sensibles à la chaleur. Cette technique permet de concentrer le produit sous forme liquide et de le conserver dans le temps, elle consiste à faire passer lentement un solvant, l'eau, par gravité à travers un solide en poudre : la matière végétale. Le liquide entraîne avec lui les principes actifs solubles. C'est le principe même de la cafetière. Le lixiviat est le produit de l'opération [64].

#### **I.2.1.6. La percolation**

Consiste à mettre en contact un lit de particule et un fluide en écoulement généralement chaud, pour extraire en continu le soluté. La préparation du café relève de cette opération [65].

### **I.2.2. Autres formes d'extraction**

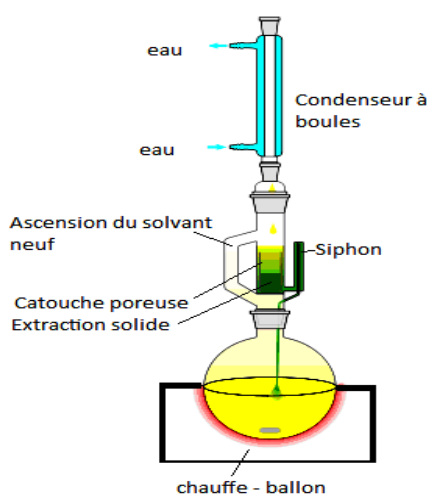
#### **I.2.2.1. Extraction par Soxhlet**

L'appareillage Soxhlet permet l'extraction aux solvants « en continu » d'espèces chimiques contenues dans une matrice solide. L'échantillon, placé dans une cartouche poreuse

à l'intérieur de l'extracteur, est traversé par les vapeurs de solvant. Celles-ci passent du ballon chauffé au tube adducteur puis se condensent dans le réfrigérant. Le condensat s'accumule dans le corps de l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du siphon, entraînant alors le retour du liquide dans le ballon. Au fil des cycles, le solvant s'enrichit en substances extraites jusqu'à épuisement de l'échantillon en substances d'intérêt [66].

Par comparaison avec les macérations classiques, cette technique permet de réduire le temps d'extraction, d'une part, et requiert nettement moins de solvant et d'échantillon pour une efficacité d'extraction supérieure, d'autre part [67, 68].

L'extraction par Soxhlet est une technique générale et bien établie, et qui dépasse en performance les autres techniques conventionnelles d'extraction, excepté dans le cas de l'extraction des composés thermolabiles [69]. Un système conventionnel de Soxhlet est représenté sur la figure I.10.



**Figure I.10** : Extracteur soxhlet.

L'extraction par Soxhlet dépend fortement des caractéristiques de la matrice solide et de la dimension des particules car la diffusion interne est souvent l'étape limitante pendant l'extraction. Les avantages de l'extraction par Soxhlet incluent [70] :

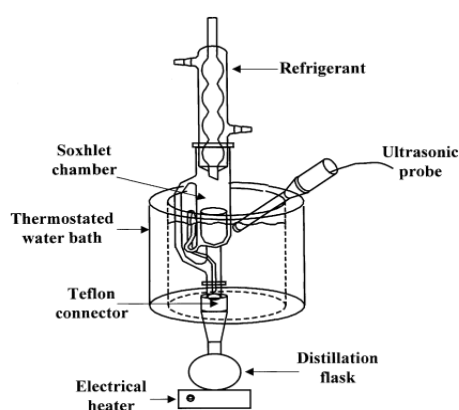
- le déplacement de l'équilibre de transfert en mettant à plusieurs reprises le solvant frais en contact avec la matrice solide,
- le maintien d'une température relativement élevée d'extraction avec la chaleur du ballon à distiller,
- aucune nécessité de filtration après l'extraction. En outre, la méthode de Soxhlet est très simple et bon marché.

Cependant, cette méthode présente des inconvénients [70] :

- le temps d'extraction est long,
- il est impossible d'accélérer le processus par agitation,
- la grande quantité de solvant utilisée exige une étape d'évaporation/ concentration
- la possibilité de dégradation thermique des composés cible ne peut pas être ignorée vu que l'extraction s'opère habituellement au point d'ébullition du solvant pendant un temps assez long.
- la grande quantité de solvant ainsi que la longue durée de l'opération ont conduit à de larges critiques de cette méthode.

### I.2.2.2. Extraction par ultra-sons

Le principe de l'extraction assistée par ultra-sons est analogue à celui d'une extraction aux solvants ; toutefois, les vibrations provoquées par les ultrasons permettent d'extraire plus rapidement les constituants [71, 72].



**Figure I.11** : Extracteur assisté par ultrason [75].

L'extraction par ultra-son est une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux techniques conventionnelles d'extraction. Les principaux avantages de l'utilisation des ultra-sons dans l'extraction de solide-liquide incluent [73] :

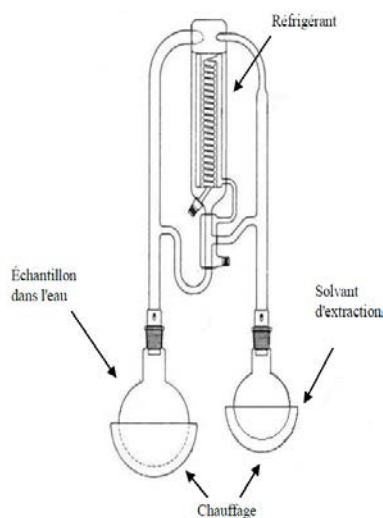
- L'augmentation de la cinétique et du rendement d'extraction,
- La réduction de la température de fonctionnement permettant l'extraction des composés thermolabiles,



- Un faible coût de l'appareillage et une simplicité de l'opération par comparaison à d'autres nouvelles techniques d'extraction telles que l'extraction assistée par micro-ondes.
- La possibilité d'utilisation de n'importe quel solvant ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de composés naturels.
- Temps d'extraction plus court et une consommation en énergie plus faible [74].

### I.2.2.3. Extraction par Likens-Nickerson

Le mode d'extraction Likens-Nickerson [19, 64] est basé sur une utilisation combinée de l'hydrodistillation et de l'extraction aux solvants figure I.12. Cette technique est généralement utilisée en agroalimentaire pour l'extraction des parfums et arômes contenus dans des échantillons solides (fruits, légumes, graines, etc.) [76, 77] ou liquides (miels, liqueurs, etc.) [78, 79]. Sur de telles matrices, elle permet d'obtenir des rendements d'extraction en volatils bien supérieurs à ceux de l'hydrodistillation [79].



**Figure I.12** : Schéma d'un système d'extraction Likens-Nickerson[66].

### I.2.2.4. Extraction par fluide à l'état supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre généralement le dioxyde de carbone [80-84]. D'autres travaux de recherches [85-88] montrent l'utilisation de l'eau dans son état supercritique. Dans ce système le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait alieu en phase gazeuse par simple détente.

L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente. De plus les températures d'extraction sont basses dans le cas de dioxyde de carbone et non agressives pour les constituants les plus fragiles. A ces différents avantages s'ajoutent ceux de l'innocuité, d'inertie et d'inflammabilité de  $\text{CO}_2$ . En outre, en fonction des conditions de pression et de température, on modifie le pouvoir solvant. Il est donc possible dans certaines limites d'orienter la composition de l'extrait, d'autant qu'il est envisageable d'utiliser un agent de co-extraction pour réguler la polarité. Le frein du développement de cette technologie est le coût élevé des appareils lié à l'application de pressions de plusieurs centaines de bars.

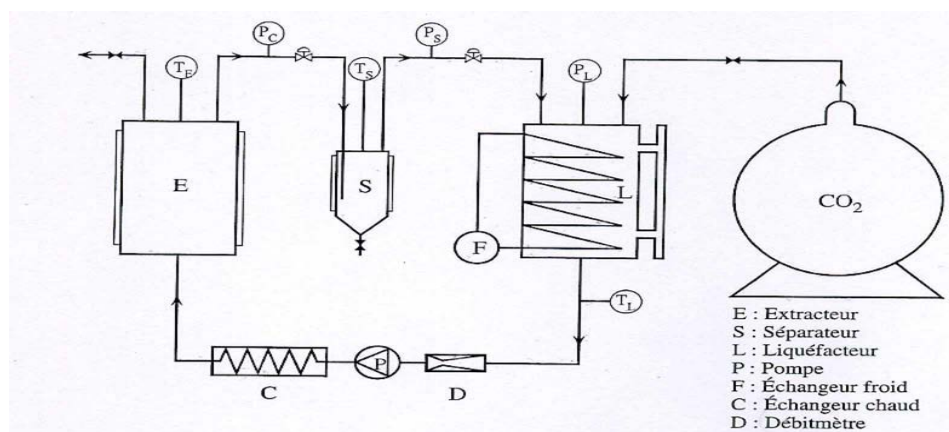


Figure I.13 : Schéma du système d'extraction  $\text{CO}_2$  des solides [89].

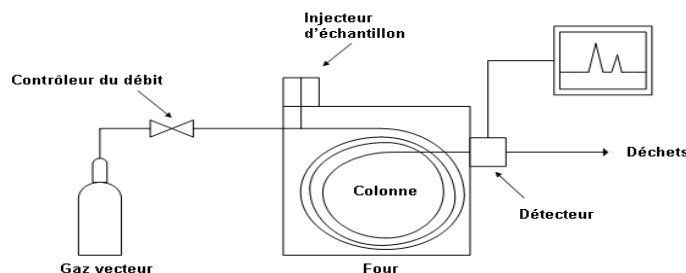
### I.3. Méthodes d'analyses

#### I.3.1. Chromatographie en phase gazeuse

##### I.3.1.1. Principe

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition [90], permet l'analyse et l'identification des composés volatils des fruits et des feuilles des plantes [91, 92]. C'est la technique de séparation la plus utilisée car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. La séparation a lieu dans des colonnes capillaires qui possèdent un fort pouvoir résolutif parfaitement adaptée aux mélanges complexes volatils. Chaque constituant est caractérisé par des indices calculés à partir d'une gamme d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante ou en programmation de température (indices de rétention,  $I_r$ ). Cependant, la comparaison des indices de rétention avec ceux de la littérature ne suffit pas à identifier formellement un composé [93]. La CPG, est aujourd'hui, un outil incontournable

pour l'analyse des composés volatils en mélange. Le schéma principal de la CPG est présenté sur la figure I.14.



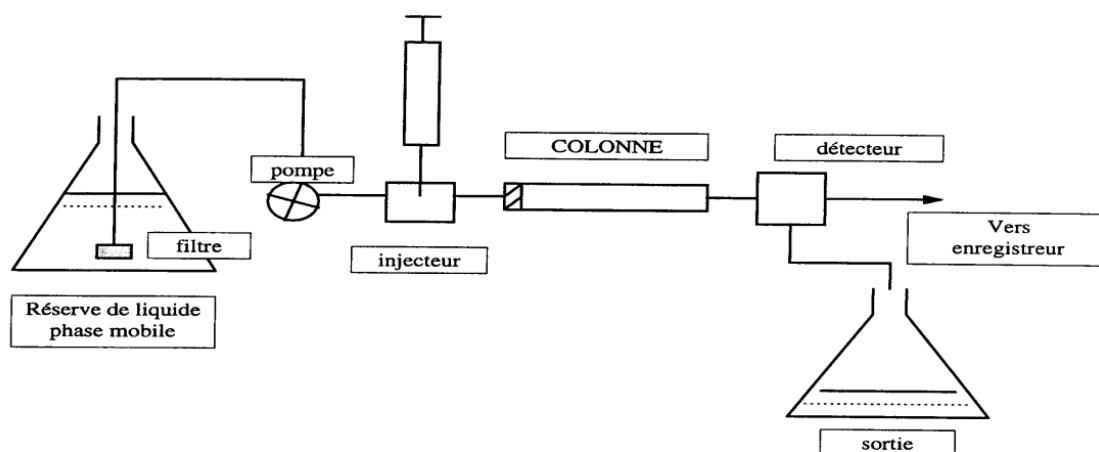
**Figure I.14 :** Schéma simplifié de la chromatographie en phase gazeuse [94].

Le principal inconvénient de cette méthode est son domaine d'application. En effet, on estime à seulement 20% des substances organiques connues les molécules qui sont susceptibles d'être analysées en CPG. Ceci pour deux raisons principales : la substance doit être relativement volatile et ne doit pas se dégrader à des températures élevées [95].

### I.3.2. La chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

#### I.3.2.1. Principe d'analyse chromatographique

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une technique d'analyse chromatographique dont le principe est basé sur la répartition du composé à analyser, entre une phase mobile liquide et une phase stationnaire très finement divisée (figure I.15). Cette méthode analytique doit son impressionnant développement à sa rapidité, sa simplicité, son coût relativement peu élevé et l'ampleur de son domaine d'application en tant qu'une méthode de séparation [96].



**Figure I.15:** Principe de fonctionnement d'un chromatographe HPLC [96].

### a) Analyse qualitative

Dans des conditions déterminées, le temps de rétention d'une substance donnée sur une colonne donnée est caractéristique de la substance ; on peut donc, à l'inverse, identifier un composé à partir de son temps (ou de son volume) de rétention.

L'analyse qualitative consiste alors, à identifier les différents composés d'un mélange, en se basant sur leur temps de rétention relatif qui représente le délai séparant le point d'injection au maximum du pic considéré. La résolution d'un système chromatographique est d'autant meilleure que les pics sont fins et séparés. L'identification d'une substance repose sur la comparaison de son temps de rétention à celui d'un étalon analysé dans des conditions identiques (temps de rétention relatif :  $t_r$ ) [97].

### b) Analyse quantitative

La chromatographie quantitative se base sur la comparaison de l'aire ou de la hauteur du pic de l'échantillon à analyser avec celle d'un ou plusieurs étalons. Si les conditions sont soigneusement contrôlées, ces deux paramètres varient linéairement avec la concentration [97].

L'aire du pic est indépendante des effets d'élargissement, c'est pourquoi, de ce point de vue, l'aire est un paramètre analytique plus satisfaisant que la hauteur du pic. Par contre, la hauteur du pic se mesure plus facilement et, pour les pics étroits, sa détermination est plus exacte. Les appareils modernes de chromatographie sont équipés d'intégrateurs électroniques qui fournissent des mesures précises des aires et des hauteurs relatives des pics.

## I.3.3. Chromatographie sur couche mince

### I.3.3.1. Appareillage

Les principaux éléments d'une séparation chromatographique sur couche mince sont:

- la cuve chromatographique : un récipient habituellement en verre, de forme variable, fermé par un couvercle étanche.
- la phase stationnaire : une couche d'environ 0,25 mm de gel de silice ou d'un autre adsorbant est fixée sur une plaque de verre à l'aide d'un liant comme le sulfate de calcium hydraté (plâtre de Paris) l'amidon ou un polymère organique.
- l'échantillon: environ un microlitre ( $\mu\text{L}$ ) de solution diluée (2 à 5 %) du mélange à analyser, déposé en un point repère situé au-dessus de la surface de l'éluant.

- l'éluant : un solvant pur ou un mélange : il migre lentement le long de la plaque en entraînant les composants de l'échantillon [98].

### **I.3.3.2. Principe de la technique**

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en générale un mélange de solvant; adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire.

Lorsque la plaque sur laquelle on dépose l'échantillon est placée dans la cuve, la phase mobile monte à travers la phase stationnaire, essentiellement par capillarité. En outre, chaque composant de l'échantillon se déplace à sa propre vitesse derrière le front du solvant. Cette vitesse dépend d'une part, des forces électrostatiques retenant le composant sur la plaque stationnaire et, d'autre part, de sa solubilité dans la phase mobile. Les composés se déplacent donc alternativement de la phase stationnaire à la phase mobile. L'action de rétention de la phase stationnaire étant principalement contrôlée par des phénomènes d'adsorption. Généralement, en chromatographie sur couche mince, les substances de faible polarité migrent plus rapidement que les composants polaires [98].

### **I.3.4. Résonance magnétique nucléaire (RMN)**

C'est la technique de choix pour la caractérisation des molécules organiques ; elle permet l'accès à des informations concernant le squelette et la fonctionnalisation des molécules. Dans cette optique les données de la littérature constituent une base intéressante permettant la comparaison avec les valeurs des déplacements chimiques du carbone 13 des composés absents de nos bibliothèques de données, mais aussi elles proposent les valeurs de déplacements chimiques de molécules « modèles » à partir desquelles des reconstitutions de spectres sont possibles [99].

### **I.3.5. spectroscopie Infra-Rouge (IR)**

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchiée ou transmise est enregistrée. Le domaine infrarouge entre

4000  $\text{cm}^{-1}$  et 400  $\text{cm}^{-1}$  (2,5–25  $\mu\text{m}$ ) correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée, les modes de vibration actifs en infrarouge peuvent être déterminés grâce à la théorie des groupes. La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent, à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau [100].

### **I.3.6. La spectrophotométrie UV-Visible**

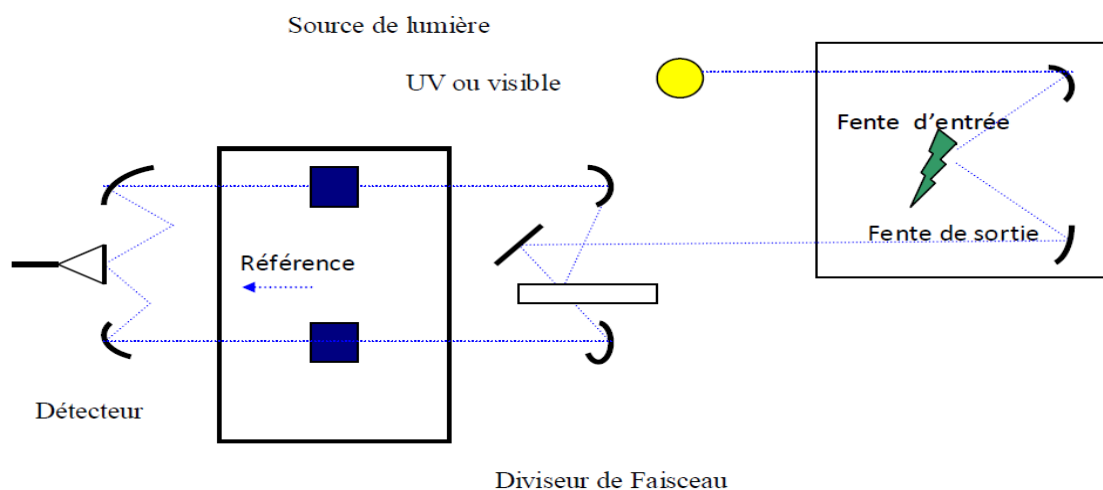
#### **I.3.6.1. Définition**

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes [101].

Le résultat correspond à des spectres d'émission ou d'absorption [102], qui ressemble à des courbes de variation d'absorption en fonction de la longueur d'ondes, il est obtenu par un spectrophotomètre à une lumière sensiblement monochromatique, ou le chromophore est le site dont la structure de l'élément à étudier possède l'aptitude à absorber les photons UV ou visible. Il est caractérisé par la longueur d'onde la plus absorbée ( $\lambda_{\text{max}}$ ), et l'aptitude la plus importante à absorber les photons à cette longueur d'onde ( $\xi_{\text{max}}$ ) [103].

#### **I.3.6.2. Principe de la spectrophotométrie UV-visible**

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier (figure I.16). Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde [96].



**Figure I.16 :** Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau [96].

Les molécules qui présentent un spectre d'absorption UV-visible sont celles qui absorbent des photons dont l'énergie correspond à des longueurs d'onde se situant dans le domaine 190 nm – 800 nm. Lorsque des molécules absorbent des photons de l'UV-Visible, l'énergie des électrons de valence augmentent. Le phénomène d'absorption dans le domaine UV-Visible est lié aux variations de l'énergie moléculaire de transitions électroniques[104].

#### a) La loi de Beer-Lambert

Le domaine spectral de l'UV-Visible est largement exploité en analyse quantitative. La loi de Beer- Lambert est une loi additive qui s'applique aux différentes molécules présentes en solution ou pour une même molécule aux différentes formes qu'elle peut prendre [101].

La loi de Beer-Lambert sert à établir une relation entre l'absorbance, l'épaisseur de l'échantillon et la concentration des espèces absorbantes.

Cette relation s'écrit :  $\text{Log}_{10} (I_0/I) = \epsilon Cl$

Ou bien sous sa forme actuelle est :  $A : \epsilon Cl$

Avec:

A : absorbance

$\epsilon$ : Coefficient d'extinction ( $\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$ ).

C : Concentration (mol/L)

l : Epaisseur de la cuve (cm).

$I_0$  : Intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon (Lumière incidente)

I : Intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (Lumière transmise)

La loi de Beer-Lambert n'est vérifiée que si les conditions suivantes sont respectées : (une lumière monochromatique, des solutions très diluées et pas de réflexion, diffusion ou fluorescence du faisceau incident.) [96]

### I.3.6.3. Appareillage [100]

Un spectrophotomètre UV-Visible est constitué schématiquement (figure I.17):

- d'une source lumineuse ;
- d'une cellule de mesure ;
- d'un sélecteur de longueur d'onde ou monochromateur ;
- d'un système de mesure de l'intensité lumineuse ou détecteur ;
- d'un dispositif d'affichage et de traitement du signal

#### ▪ Sources lumineuses

Beaucoup de spectromètres comportent deux lampes à usage de sources:

- une lampe à arc au deutérium sous moyenne pression pour la partie UV (<350 nm).
- une lampe à incandescence avec un filament de tungstène et une enveloppe de verre de silice (quartz) pour la partie visible du spectre (à partir de 350 nm). La lampe à arc xénon qui couvre tout le domaine de 200 à 1100nm, est utilisée pour les appareils de routine. Cette source plus énergétique est souvent utilisée. Elle est choisie comme source unique par les constructeurs lorsqu'il s'agit d'un appareil de routine allant de 300 à 1100nm.



**Figure I.17:** lampe UV au deutérium

#### ▪ Sélecteur de longueurs d'onde - Le monochromateur

Le monochromateur, est un système qui permet d'extraire de la lumière émise par la source, un domaine étroit de son spectre d'émission et de sélectionner les longueurs d'onde du spectre. Il est constitué d'une fente d'entrée, d'un système de dispersion et d'une fente de sortie (figure I.18).



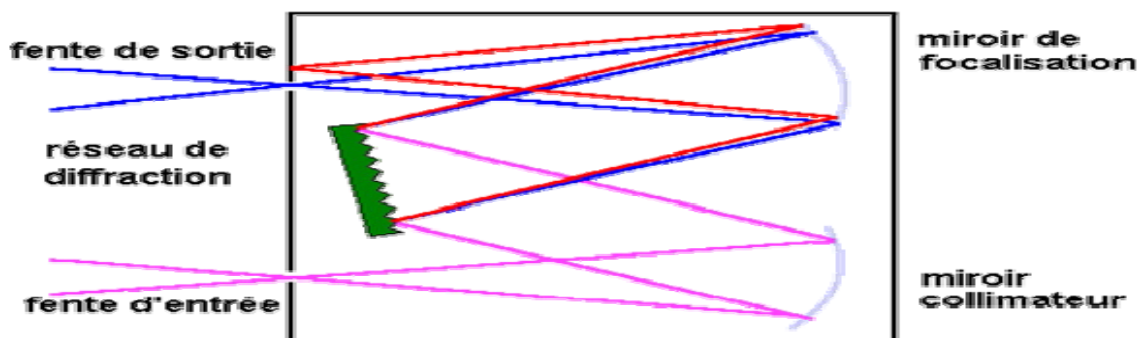


Figure I.18: Monochromateur à réseau

### ▪ Cellules

La cellule d'analyse se présente sous forme de parallélépipède à base carrée de 1 cm de trajet optique ayant deux faces opposées polies.

On utilise des cuves en plastique transparent (milieu aqueux) ou en verre ordinaire (milieu aqueux et organique), destinées aux mesures dans le domaine du visible et des cuves en quartz pour les mesures dans le domaine de l'ultraviolet.

### ▪ Détecteurs

Le signal lumineux est convertit en signal électrique à l'aide d'un détecteur photo électrique.

On utilise soit un tube photomultiplicateur, soit un semi-conducteur (détecteur à transfert de charge ou photodiode au silicium).

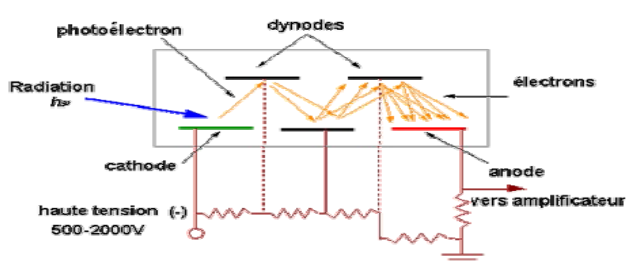


Figure I.19: photomultiplicateur

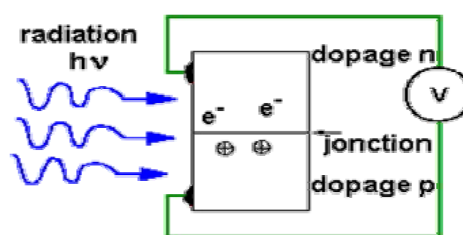


Figure I.20 : photodiode

### I.3.6.4. Applications

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative [104].

**a) Analyse qualitative (identification des substances)**

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne permet pas l'identification certaine des molécules. Elle doit toujours être complétée par d'autres méthodes spectrales (IR, RMN, spectrométrie de masse) ou chimiques.

**b) Analyse quantitative**

Les mesures en UV/Visible reposent sur la loi de Beer et Lambert ; qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

**I.3.6.5. Principe d'étalonnage avec spectrophotomètre**

La méthode de mesure consiste à mesurer directement le rapport entre le flux incident et le flux transmis à travers l'éprouvette. Pour ces mesures, le spectrophotomètre fonctionne en mode « double faisceau ». La transmission du filtre est obtenue en faisant le rapport entre le signal « voie échantillon » et le signal « voie référence ». Ce mode de fonctionnement permet de corriger les variations d'émission de la source et les variations de transmission de l'atmosphère sur le trajet optique du faisceau [105].

## **CHAPITRE II**

### ***MATERIEL ET METHODES***

## Chapitre II

### Matériel et Méthodes

Ce chapitre présente l'ensemble des réactifs, du matériel et des méthodes analytiques utilisés au cours de ce travail.

#### II.1. Appareillages et logiciels utilisés

Les appareils utilisés sont:

- ✓ Le spectrophotomètre «UV2101PC» à double faisceaux couplé avec un micro-ordinateur en utilisant des cuves en quartz de 1cm d'épaisseur (trajet optique), pour le tracé des spectres d'absorption des liqueurs de thym.
- ✓ Le soxhlet pour l'extraction par des solvants organiques.

Les logiciels utilisés : UVPC30 pour tracer les spectres d'absorption, Excel 2010 pour le traitement des résultats.

#### II.2. Matériel et produits

##### II.2.1. Matériel utilisé

- ❖ Balance électronique
- ❖ Becher de 100 et 200 ml
- ❖ Boîtes à pétri
- ❖ Conductimètre
- ❖ Dessiccateur
- ❖ Entonnoir
- ❖ Erlenmeyers
- ❖ Etuve
- ❖ Fioles jugées de 25 ml, 50 ml, et 1000 ml.
- ❖ Papier absorbant
- ❖ Papier filtre (Wattman N°2)
- ❖ Papier aluminium
- ❖ Para-film

- ❖ pH-mètre et conductimètre « Inolab pH level 1 ».
- ❖ Pipettes
- ❖ Pissette
- ❖ Plaque chauffante munie d'une sonde de température analogique Checktemp1 (Hanna)
- ❖ Spatule
- ❖ Thermomètre

### II.2.2. Matière végétal (Thym)

Nous avons utilisé un thym récolté en avril 2014, en quantité suffisante à la crête Sidi Boudrahem, Béjaia. Nous avons récupéré les feuilles de thym et nous les avons mis dans une étuve à 40°C pendant une semaine pour éliminer l'eau des feuilles. Après cela, nous avons mis ces feuilles de thym dans un dessiccateur pour les protéger contre l'humidité. A chaque analyse, nous prenons la quantité de feuilles du thym nécessaire du dessiccateur. Un échantillon de ces feuilles est représenté dans la figure II.1.



**Figure II.1 :** Feuilles de thym avant infusion

### II.2.3. Eaux utilisées

Les différentes eaux utilisées (Tableau II.1) sont l'eau distillée du laboratoire, l'eau minérale naturelle Djurdjura ainsi que quatre eaux obtenues par ajout de différents sels de calcium à l'eau Djurdjura. Ces dernières sont préparées à l'aide d'une balance de précision et de fioles jaugées de 1 L. Elles seront appelées par la suite « eaux synthétiques ».

**Tableau II.1** : Eaux utilisées

Nature de l'eau	Nom	Nature du sel ajouté	Masse (g) de sel ajouté pour 1L d'eau	Abréviation
Eau distillée				ED
Eau minérale naturelle	Djurdjura			ES
Eaux modifiées	Djurdjura avec $\text{CaCl}_2$	$\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$	0,4432	ES + $\text{CaCl}_2$ B <sup>(1)</sup>
	Djurdjura avec $\text{CaCl}_2$	$\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$	0,7388	ES+ $\text{CaCl}_2$ H <sup>(1)</sup>
	Djurdjura avec $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2, 4\text{H}_2\text{O}$	1,1987	ES+ $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

(1) : B pour Basse concentration et H pour Haute concentration en  $\text{CaCl}_2$

### II.2.3. Réactifs

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences est rassemblé dans le Tableau II.2

**Tableau II.2** : Réactifs utilisés

Réactif	Masse molaire (g/mole)	Pureté (%)	Formule chimique
Nitrate de calcium 4-hydrate	147,02	99,5	CaCl <sub>2</sub> , 2H <sub>2</sub> O
Chlorure de calcium di-hydrate	236,15	98,5	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , 4H <sub>2</sub> O
Ethanol (T <sub>eb</sub> =78,37°C)	46,07	99,9	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O
Hexane (T <sub>eb</sub> =68,73°C)	86,18	99,998	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub>

### II.3. Préparation des solutions

➤ **Solution nitrate de calcium 4-hydraté [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O]: 3.10<sup>-3</sup>M**

Dans une fiole de 1L on verse une masse de 0,7192 g de nitrate de calcium 4-hydrate [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 4H<sub>2</sub>O] et on ajuste jusqu'au trait de repère avec l'eau minérale (Djurjura).

➤ **Solution chlorure de calcium di-hydrate [CaCl<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>O] : 5.10<sup>-3</sup>M**

Dans une fiole de 1L on verse une masse de 0,7388 g de Chlorure de calcium di-hydrate [CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O] et on ajuste jusqu'au trait de repère avec l'eau minérale (Djurjura).

➤ **Solution standard de (CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O) : 3.10<sup>-3</sup>M**

Dans une fiole de 1L on verse une masse de 0,4432g de chlorure de calcium di-hydrate [CaCl<sub>2</sub>, 2H<sub>2</sub>O] et on ajuste jusqu'au trait de repère avec l'eau minérale (Djurjura).

### II.4. Préparation des liqueurs de thym par infusion

Une masse d'eau (100 g) et une masse de feuilles (0,1 g) sont pesées à l'aide d'une balance précise à 1 mg près. L'eau est chauffée jusqu'à la température voulue (T °C) contrôlée à l'aide d'une sonde de température analogique *Digital thermoregulator* VTF. L'eau chauffée est ensuite versée sur les feuilles et laissée en contact pendant le temps voulu (t min), temps contrôlé à l'aide d'un chronomètre précis à 1 s près. La liqueur de thym est filtrée à l'aide d'un papier filtre afin de retirer les feuilles. Une fois à température ambiante (20 à 25 °C), l'échantillon est analysé par le spectrophotomètre « UV2101 PC » à double

faisceaux. On utilise deux cuves en quartz de 1 cm d'épaisseur (trajet optique), l'une est remplie de la liqueur de thym (l'échantillon à analyser) et l'autre est remplie de l'eau utilisée pour préparer cette liqueur (la référence ou le blanc). Les spectres d'absorption UV visible sont tracés dans l'intervalle [200 nm – 400 nm] avec un pas de 0,2 nm. Le rapport entre la masse des feuilles et la masse de l'eau (0,1 %) est choisi par rapport aux spectres d'absorption UV obtenus.

## **II.5. Les paramètres étudiés dans la méthode d'extraction par infusion**

### **II.5.1. Effet du temps sur l'infusion du thym dans l'eau distillée et l'eau Djurdjura**

Pour chaque température ( $T = 70^{\circ}\text{C}$  ;  $80^{\circ}\text{C}$  ;  $85^{\circ}\text{C}$  ;  $90^{\circ}\text{C}$  ;  $95^{\circ}\text{C}$  ;  $99^{\circ}\text{C}$ ), On fait varier la durée d'infusion ( $t = 1\text{min}$  ;  $3\text{min}$  ;  $5\text{min}$  ;  $10\text{min}$  ;  $15\text{min}$  ;  $20\text{min}$ ) et on trace les spectres d'absorption UV obtenus.

### **II.5.2. Effet de la température sur l'infusion du thym dans l'eau distillée et l'eau Djurdjura**

Pour chaque durée d'infusion ( $t = 1\text{min}$  ;  $3\text{min}$  ;  $5\text{min}$  ;  $10\text{min}$  ;  $15\text{min}$  ;  $20\text{min}$ ), On fait varier la température ( $T = 70^{\circ}\text{C}$  ;  $80^{\circ}\text{C}$  ;  $85^{\circ}\text{C}$  ;  $90^{\circ}\text{C}$  ;  $95^{\circ}\text{C}$  ;  $99^{\circ}\text{C}$ ) et on trace les spectres d'absorption UV obtenus.

### **II.5.3. Effet de la qualité de l'eau utilisée sur l'infusion du thym**

Pour une température  $T = 95^{\circ}\text{C}$  et une durée d'infusion  $t = 10\text{min}$ , On fait varier l'eau utilisée (Tableau 2.1) et On trace les spectres d'absorption UV obtenus.

### **II.5.4. Variations de pH et conductivité des liqueurs de thym**

100 g masse d'eau et différentes masses feuilles de thym (0,1; 0,15 ; 0,2 et 0,25) en gramme sont pesées à l'aide d'une balance précise à 1 mg près. L'eau est chauffée jusqu'à la température  $95^{\circ}\text{C}$  contrôlée à l'aide d'une sonde de température analogique Digital thermoregulator VTF. L'eau chauffée est ensuite versée sur les feuilles et laissée en contact pendant le temps 10min, temps contrôlé à l'aide d'un chronomètre précis à 1 s près. La



liqueur de thym est filtrée à l'aide d'un papier filtre de type wathman n°2 afin de retirer les feuilles. On laisse l'échantillon refroidir après on mesure la conductivité et le pH.

## II.6. Extraction par solvant organique « Soxhlet »

L'extracteur de Soxhlet permet le traitement des solides (matière végétale) avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. Dans notre étude nous avons choisi de travailler avec deux solvants organiques : l'hexane et l'éthanol

L'éthanol est connu comme un bon solvant d'extraction des composés polaires tels que les composés phénoliques; ces deux solvants ont été choisis en raison de leurs polarités opposées permettant l'extraction de différents types de composés (non polaire et polaire).

Dans le but d'évaluer la capacité d'extraction de ces deux solvants, les extractions ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires : une masse de matière végétale « feuille de thym » de 0,5 g avec un volume de solvant à 50 ml est chauffé à la température  $T=80^{\circ}\text{C}$  et temps d'extraction  $t=10\text{h}$ .

# **CHAPITRE III**

## ***RESULTATS EXPERIMENTAUX ET DISCUSSIONS***

## Chapitre III

### Résultats expérimentaux et discussions

Lors de l'extraction des composés organiques par l'eau, des phénomènes physico-chimiques sont à la base d'échanges de matière entre le solide (thym) et le solvant d'extraction (eau), d'où l'influence de multiples facteurs sur la cinétique d'extraction.

Dans cette partie, les conditions opératoires ont été étudiées afin d'optimiser les paramètres intervenant lors de l'extraction des substances naturelles par l'eau.

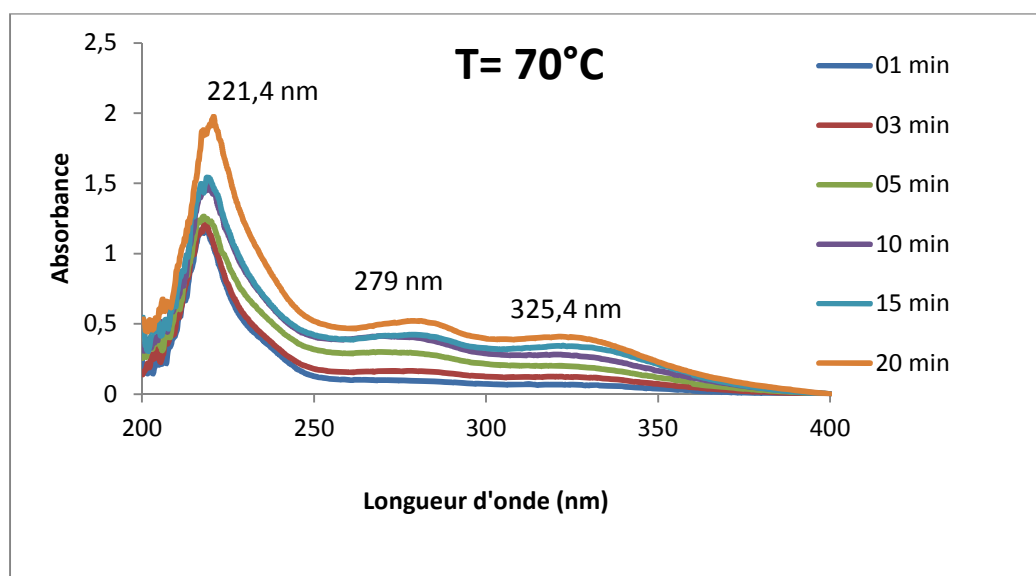
#### III.1. Infusion du thym dans l'eau de source « Djurdjura »

##### III.1.1. Effet de la durée d'infusion

##### III.1.1.1. Infusion à T=70°C

##### a) Spectres d'absorption UV des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion

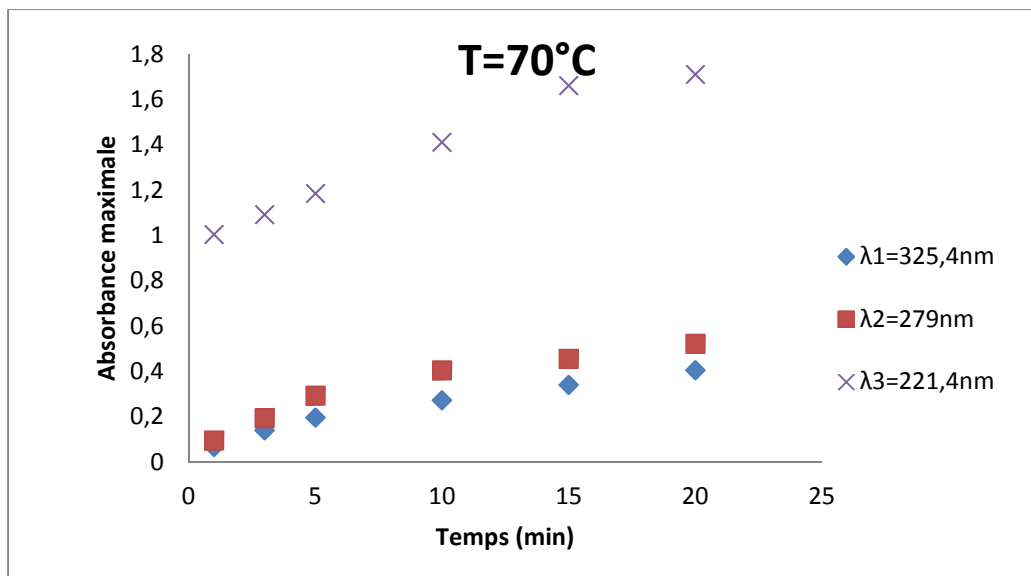
Dans la figure III.1 sont représentés les spectres d'absorption des liqueurs de thym pour les différents temps d'infusions. On remarque trois bandes d'absorption importantes à 221,4 nm, 279 nm et 325,4 nm. Les absorbances augmentent avec le temps d'infusion. Cette augmentation est due à l'augmentation de la concentration des composés infusés des liqueurs de thym après infusion.



**Figure III.1 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion. T=70°C, volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g.

### b) Cinétique d'extraction:

L'évolution des absorbances maximales en fonction du temps sont représentées sur la figure III.2



**Figure III.2 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à T = 70°C

Pour mieux expliquer la cinétique de l'infusion, nous avons calculé la variation de l'absorbance par unité de temps dans les intervalles de temps : 0 à 1 min ; 1 à 3 min ; 3 à 5 min ; 5 à 10 min ; 10 à 15 min et 15 à 20 min. Cette grandeur est proportionnelle au nombre de molécules extraites par unité de temps, elle reflète la vitesse moyenne d'extraction dans chacun de ces intervalles. Les valeurs de cette grandeur sont représentées dans le tableau III.1.

**Tableau III. 1:** Les variations des absorbances par unité de temps

Temps (min)	$\Delta A / \Delta T$ (325,4 nm)	$\Delta A / \Delta T$ (279 nm)	$\Delta A / \Delta T$ (221,4 nm)
0	/	/	/
1	0,066	0,094	1,004
3	0,037	0,050	0,004
5	0,028	0,049	0,045
10	0,015	0,022	0,045
15	0,013	0,010	0,050
20	0,013	0,013	0,010

D'après les valeurs du tableau III.1, la vitesse moyenne d'extraction des molécules absorbantes à la bande I (BI) diminue considérablement pendant les dix premières minutes, et devient constante et faible (1/5 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction) dans l'intervalle de temps [10 min – 20 min]. Selon la bande II (BII), la vitesse d'infusion diminue considérablement pendant les 15 premières minutes puis devient constante et faible (1/7 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction) dans l'intervalle de temps [15 min – 20 min]. La cinétique correspondant de la bande III (BIII) est très importante dès la première minute de contact entre les feuilles de thym et l'eau chaude, Au-delà d'une minute, elle chute considérablement et devient constante (1/20 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction). En conclusion, nous déduisons que la vitesse d'infusion est importante au début du contact du thym avec l'eau chaude, mais cette vitesse diminue au cours du temps. Ceci peut être expliqué par la diminution du gradient de concentration des composés organiques entre les feuilles de thym et l'eau. Nous remarquons les cinétiques d'infusion des bandes I et II sont presque identiques, ceci peut être expliqué par le fait que les composés qui absorbent dans ces deux bandes ont presque la même structure chimique, ceux sont les flavonoïdes, par contre la cinétique relative à la bande d'absorption III est différente de celles des bandes I et II, l'extraction des composés qui absorbent dans cette bande est très rapide, ces composés sont les polyphénols [106]. Pour mieux comparer les cinétiques relatives trois bandes d'absorption, nous avons aussi calculé une autre grandeur qui permet de comparer chaque deux bandes en constatant l'évolution en fonction du temps, de la valeur du rapport des absorbances maximales des deux bandes concernées. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau III.2.

**Tableau III.2 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées

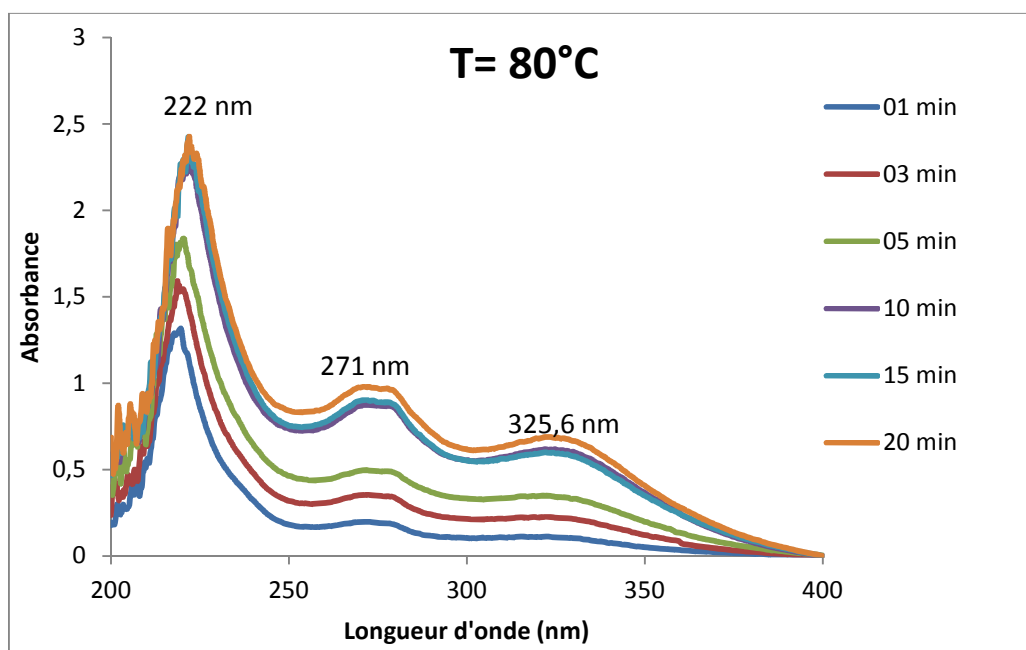
Temps (min)	AII/AI	AIII/AI	AIII/AII
1	1,424	15,209	10,679
3	1,386	7,794	5,625
5	1,482	6,011	4,055
10	1,480	5,164	3,490
15	1,335	4,882	3,656
20	1,286	4,222	3,282

Les résultats du tableau III.2 confirment les conclusions précédentes, à savoir : Les deux bandes I et II ont la même cinétique ( $A_{II}/A_I$  ne varie pas presque avec le temps), tandis que les valeurs des rapports  $A_{III}/A_I$  et  $A_{III}/A_{II}$  diminuent avec le temps ce qui signifie que la cinétique relative à de libération de la bande I ou II est plus importante que celle de la bande III et ceci est due au fait que les composés qui absorbent à la bande III sont extraits dès la première minute.

### III.1.1.2. Infusion à $T=80^{\circ}\text{C}$

Les Spectres d'absorption UV obtenus à la température d'infusion de  $80^{\circ}\text{C}$  sont représentés dans la figure III.3.

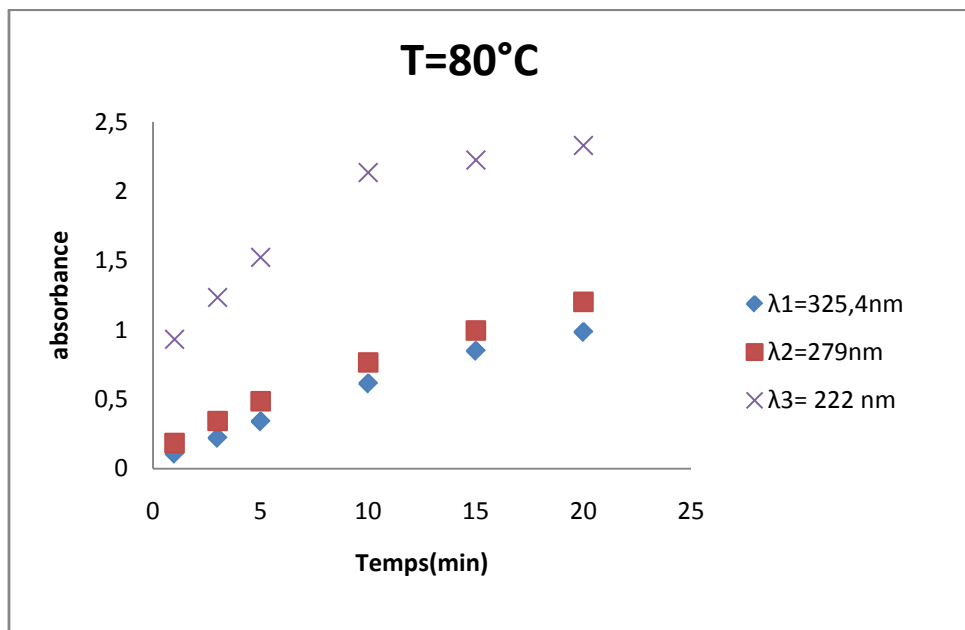
On remarque trois bandes d'absorption importantes à 222 nm, 279nm et 325,4nm qui sont les mêmes trouvés à température d'infusion  $70^{\circ}\text{C}$ . Les absorbances maximale correspondantes aux trois bandes, augmentent avec le temps d'infusion.



**Figure III.3 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion.

(Température= $80^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse de tu thym= 0,1g).

La cinétique d'extraction des composés caractérisés par ces trois bandes maximale est représentée dans la figure III.4.



**Figure III.4 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à T = 80°C

Les valeurs de la variation de l'absorbance maximale par unité de temps sont représentées dans le tableau III.3

**Tableau III.3 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T = 80°C

Temps (min)	$\Delta A / \Delta t$ (325,4 nm)	$\Delta A / \Delta t$ (279 nm)	$\Delta A / \Delta t$ (222 nm)
0	/	/	/
1	0,107	0,185	1,2
3	0,057	0,079	0,121
5	0,060	0,071	0,115
10	0,055	0,056	0,119
15	0,047	0,046	0,017
20	0,027	0,041	0,014

D'après les valeurs du tableau (III.3), la vitesse moyenne d'extraction des molécules absorbantes à la bande I (BI) diminue considérablement, et reste constante (1/2 de la vitesse moyenne à la première minute) dans l'intervalle de temps [3 min – 10 min], après 15 min d'infusion, la vitesse d'extraction diminue de 2 fois par rapport la vitesse initiale. Selon la bande II (BII), la vitesse d'infusion diminue considérablement pendant le processus

d'extraction de 1min à 20 min, et reste constante dans l'intervalle [15 min - 20 min]. La cinétique relative à la bande III (BIII) est très rapide dès la première minute de contact, Au-delà d'une minute, elle chute considérablement et devient constante (1/10 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction) dans l'intervalle de temps [3 min- 10 min], suivi d'une forte diminution et constante (1/7 de la vitesse moyenne à la dix minute d'extraction) dans l'intervalle de temps [15 min – 20 min].

Les valeurs du rapport des absorbances maximales des bandes sont représentés dans le tableau III.4.

**Tableau III.4** : Résultats des rapports d'absorbances maximale à différentes durées

Temps (min)	A(II)/A(I)	A(III)/A(I)	A(III)/A(II)
1	1,729	11,374	6,486
3	1,561	6,998	4,191
5	1,430	5,406	3,442
10	1,247	3,609	2,966
15	1,173	2,706	2,367
20	1,122	2,462	2,019

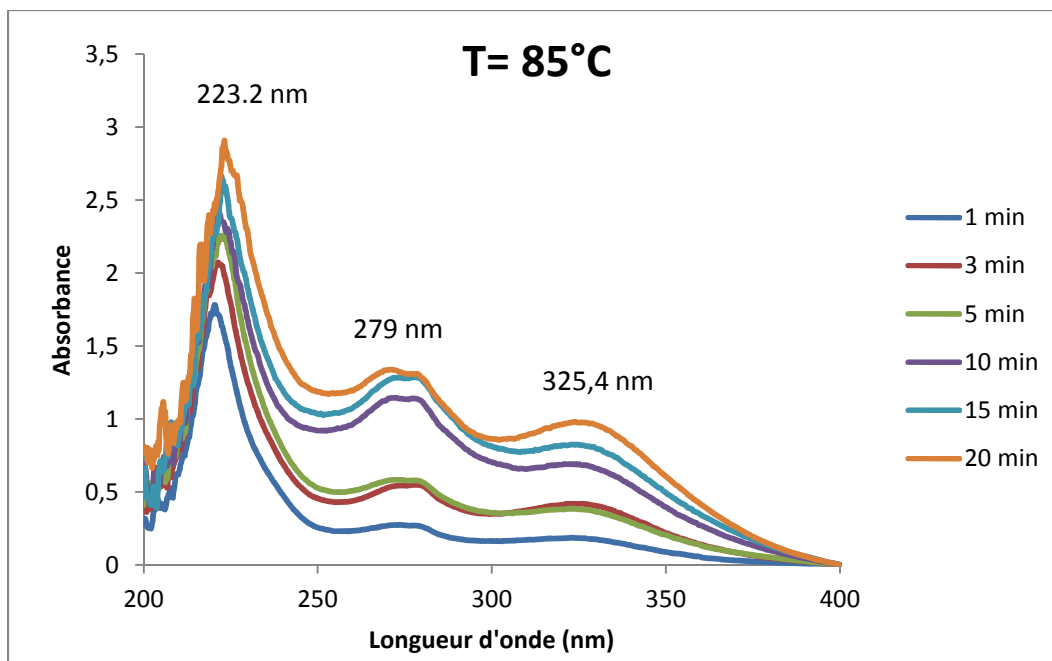
Les résultats du tableau III.4 confirment les conclusions précédentes, à savoir : Les extractions relatives aux deux bandes I et II ont la même cinétique, tandis que les valeurs des rapports AIII/AI et AIII/AII diminuent avec le temps ce qui explique que les molécules qui absorbent aux bande I ou II sont plus importantes que celles relatives à la bande III.

### III.1.1.3. Infusion à T=85°C

Les Spectres d'absorption UV obtenus à la température d'infusion de 85°C sont représentés dans la figure III.5

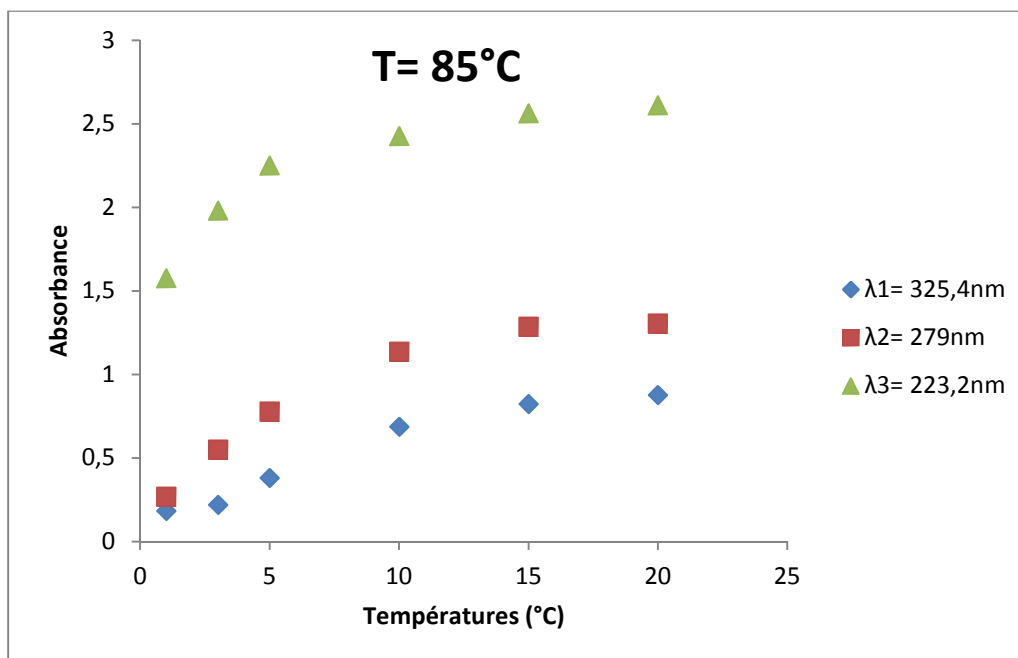
On remarque trois bandes d'absorption importantes à 223,2 nm, 279nm et 325,4nm qui sont les trouvés à température 70°C. Les absorbances maximale correspondantes aux trois bandes, augmentent avec le temps d'infusion.





**Figure III.5 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion. (Température=85°C, volume d'eau=100 ml, masse de tu thym= 0,1g).

La cinétique d'extraction des composés caractérisés par ces trois bandes maximale est représentée dans la figure III.6



**Figure III.6 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à T= 85°C

Les valeurs de la variation de l'absorbance maximale par unité de temps sont représentées dans le tableau III.5

**Tableau III. 5 :** Les variations des absorbances maximale par unités de temps à T= 85°C

Temps (min)	$\Delta A/\Delta t$ 325,4 nm	$\Delta A/\Delta t$ 279 nm	$\Delta A/\Delta t$ 223,2 nm
0	/	/	/
1	0,182	0,266	1,575
3	0,018	0,141	0,202
5	0,080	0,114	0,136
10	0,061	0,072	0,035
15	0,027	0,030	0,027
20	0,011	0,004	0,010

D'après les valeurs du tableau III.5, la vitesse moyenne d'extraction des molécules absorbantes à la bande I (BI) diminue considérablement pendant l'intervalle de temps de l'infusion [1 min – 20 min], une chute de 1/10 de la vitesse moyenne à la première minute d'infusion pendant un temps 3 min est due à l'ordre d'erreur. Selon la bande II (BII), la vitesse d'infusion diminue considérablement pendant les 15 premières minutes puis devient lente à 20 min. La cinétique relative de la bande III (BIII) est très rapide dès la première minute de contact, Au-delà d'une minute, elle chute considérablement (1/8 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction), après 10 min d'infusion, la vitesse d'extraction diminue 45 fois la vitesse initiale.

Les valeurs du rapport des absorbances maximales des bandes sont représentées dans le tableau III.6.

**Tableau III.6 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées

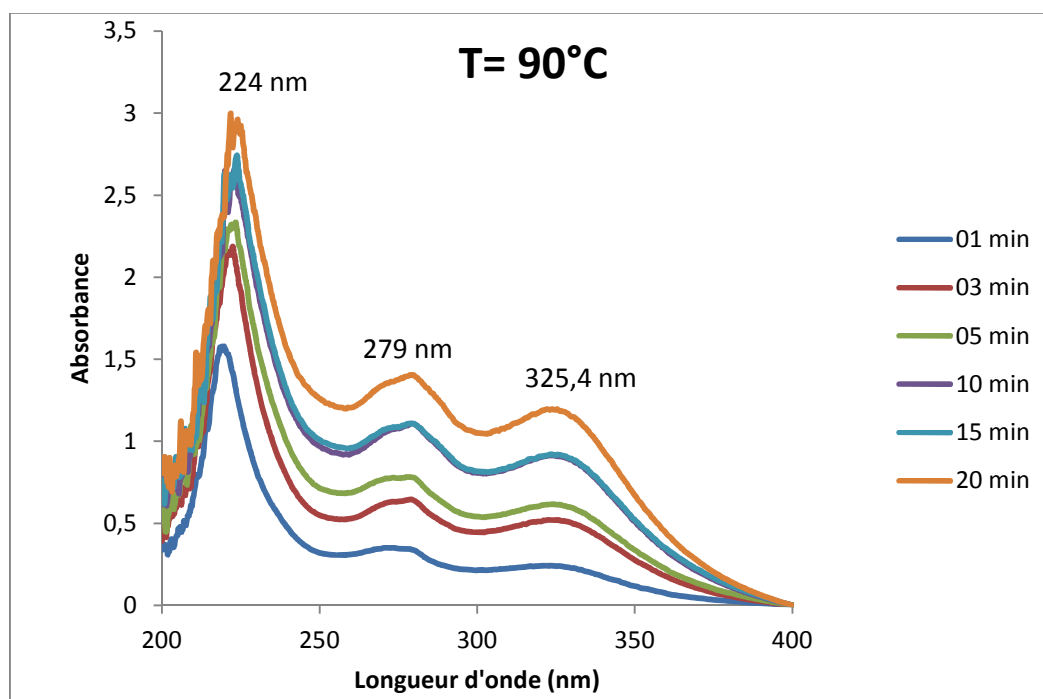
Temps (min)	A(III)/A(II)	A(III)/A(I)	A(II)/A(I)
1	5,921	8,654	1,462
3	3,611	9,037	2,502
5	2,899	5,921	2,042
10	2,138	3,535	1,653
15	1,997	3,117	1,561
20	2,005	2,979	1,486

Les résultats du tableau III.6 confirment la cinétique d'infusion des absorbances maximales, à savoir : Les extractions relatives deux bandes I et II ne varie pas presque avec le temps, l'extraction des molécules de deux bandes I et II se fait aux mêmes temps, tandis que les valeurs des rapports  $A_{III}/A_I$  et  $A_{III}/A_{II}$  diminuent avec le temps ce qui signifie que la cinétique relative de libération la bande I ou II sont plus importantes que celles relatives à la bande III.

#### III.1.1.4. Infusion à T= 90°C

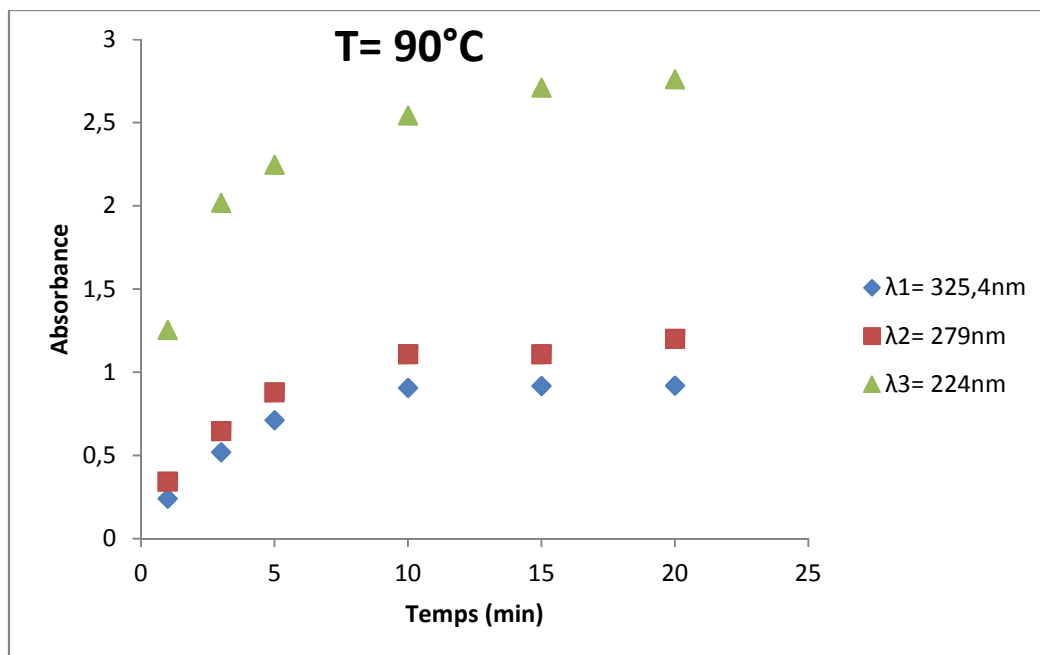
Les spectres d'absorption UV obtenus à la température d'infusion de 90°C sont représentés dans la figure III.7.

On remarque trois bandes d'absorption importantes à 224 nm, 279nm et 325,4nm qui sont les mêmes trouvées à température d'infusion 70°C. Les absorbances maximales correspondantes aux trois bandes, augmentent avec le temps d'infusion.



**Figure III.7 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différents durée d'infusion. (Température=90°C, volume d'eau=100 ml, masse de tu thym= 0,1g).

La cinétique d'extraction des composés caractérisés par ces trois bandes maximale est représentée dans la figure III.8, les bandes I (325,4 nm) et II (279 nm) présentent une même cinétique.



**Figure III.8 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau de Djurdjura à T= 90°C

Les valeurs de la variation de l'absorbance maximale par unité de temps sont représentées dans le tableau III.7

**Tableau III. 7 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T= 90°C

Temps (min)	$\Delta A / \Delta t$ (325,4 nm)	$\Delta A / \Delta t$ (279 nm)	$\Delta A / \Delta t$ (224 nm)
0	/	/	/
1	0,24	0,342	1,254
3	0,14	0,152	0,382
5	0,097	0,117	0,115
10	0,039	0,046	0,059
15	0,002	0,000	0,034
20	0,000	0,000	0,01

D'après les valeurs du tableau III.7, les vitesses moyennes d'extraction des molécules absorbantes aux bandes d'absorption I et II diminuent jusqu'à leur annulation après 15 minutes d'infusion; ce qui signifie un équilibre entre le thym et la liqueur obtenue. La cinétique de la bande III (BIII) est très rapide dès la première minute de contact entre les

feuilles de thym et l'eau chaude, Après 10 minutes d'infusion, la vitesse d'extraction diminue de 20 fois par rapport la vitesse initiale.

En conclusion, nous déduisons que la vitesse d'infusion est importante au début du contact du thym avec l'eau chaude, mais cette vitesse diminue au cours du temps. Nous déduisons aussi que les cinétiques relatives à la bandes I et II sont presque identiques, vers la fin d'infusion la vitesse est nulle ce qui explique un équilibre d'extraction des composées entre le thym et la liqueur obtenue. Par contre la cinétique relative à la bande d'absorption III est différente de celles des bandes I et II, l'extraction des composés qui absorbent cette bande est très rapide au départ et devient très lente après une minute d'infusion.

Les valeurs du rapport des absorbances maximales des bandes sont représentées dans le tableau III.8

**Tableau III. 8 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées

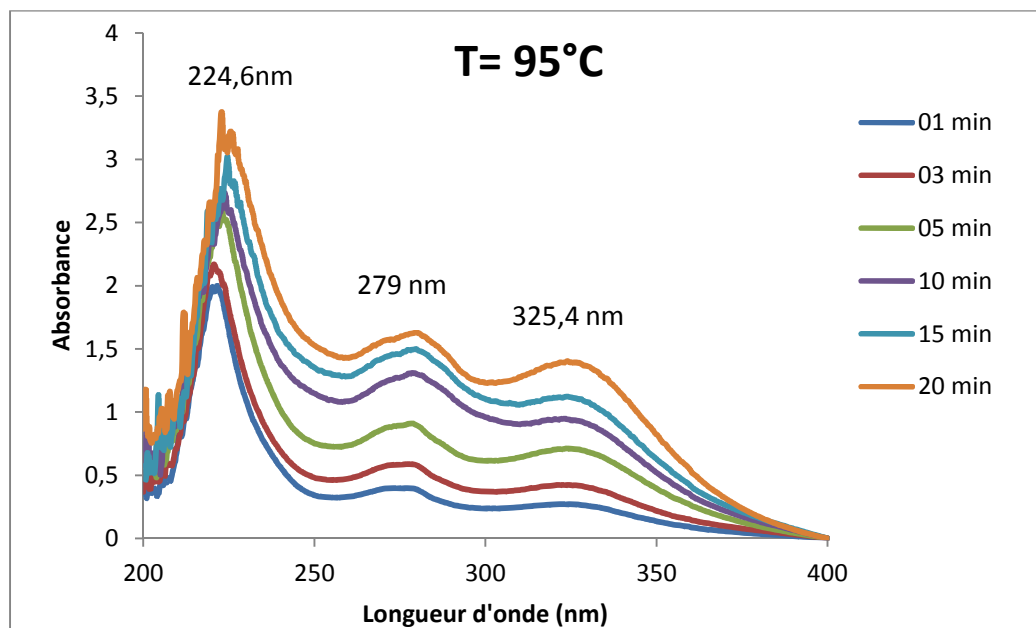
Temps (min)	A(III)/A(I)	A(III)/A(II)	A(II)/A(I)
1	5,225	3,667	1,425
3	3,883	3,125	1,242
5	3,153	2,555	1,234
10	2,805	2,296	1,222
15	2,951	2,445	1,207
20	3,002	2,302	1,304

Les résultats du tableau III.8 confirment que pour les extractions relatives deux bandes I et II ne varie pas avec le temps, tandis que les valeurs des rapports AIII/AI et AIII/AII diminuent avec le temps, ce qui signifie l'extraction des molécules qui absorbent à la bande I et II se fait de manière plus rapide à celle des composées qui absorbe relative à la bande III.

#### III.1.1.5. Infusion à T=95°C

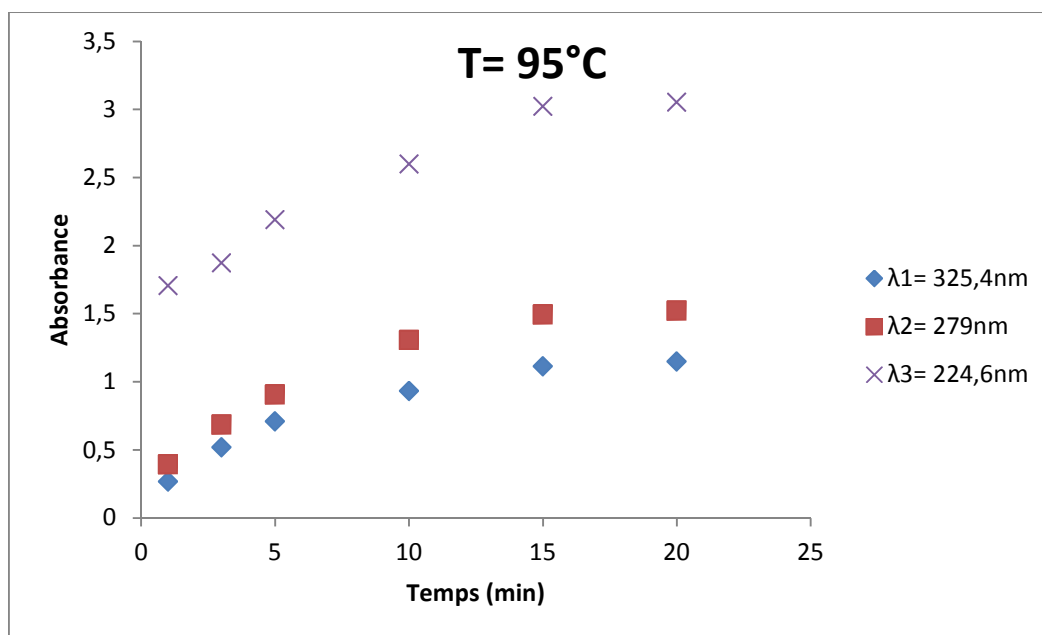
Les spectres d'absorption UV obtenus à la température d'infusion de 95°C sont représentés dans la figure (III.9).

On remarque trois bandes d'absorption importantes à 224,6 nm, 279nm et 325,4nm. Les absorbances maximales correspondantes aux trois bandes, augmentent avec le temps d'infusion.



**Figure III.9:** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion. (Température=95°C, volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g).

La cinétique d'extraction des composés caractérisés par ces trois bandes maximale est représentée dans la figure III.10



**Figure III.10 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à T = 95°C

Les valeurs de la variation de l'absorbance maximale par unité de temps sont représentées dans le tableau III.9

**Tableau III.9 :** Les variations des absorbances maximales par unité de temps à T= 95°C

Temps (min)	$\Delta A/\Delta t$ 325,4 nm	$\Delta A/\Delta t$ 279 nm	$\Delta A/\Delta t$ 224,6 nm
0	/	/	/
1	0,268	0,394	1,706
3	0,126	0,146	0,084
5	0,095	0,111	0,158
10	0,045	0,080	0,082
15	0,036	0,037	0,084
20	0,007	0,006	0,006

D'après les valeurs du tableau III.9, les vitesses moyennes d'extraction des molécules absorbantes aux bandes d'absorptions I et II diminuent jusqu'à leur annulation après 15 minutes d'infusion, en effet la cinétique de l'extraction de ces deux bandes devient lente. La cinétique relative à la bande III (BIII) est très rapide dès la première minute de contact, au-delà d'une minute, la vitesse d'infusion diminue considérablement et devient négligeable (1/10 de la vitesse moyenne à la première minute d'extraction).

En conclusion, nous déduisons que la vitesse d'infusion est importante au contact, mais cette vitesse diminue au cours du temps. Nous déduisons aussi que les cinétiques des bandes I et II sont presque identiques, vers la fin du temps d'infusion la vitesse devient négligeable, tandis que l'extraction des composées d'intérêt au cours du temps. Par contre la cinétique relative à la bande d'absorption III est différente de celles des bandes I et II (pas à 20 min), l'extraction des composés qui absorbent dans cette bande est très rapide au départ et devient très lente après une minute d'infusion.

Les valeurs du rapport des absorbances maximales des bandes sont représentées dans le tableau III.10

**Tableau III.10** : Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées

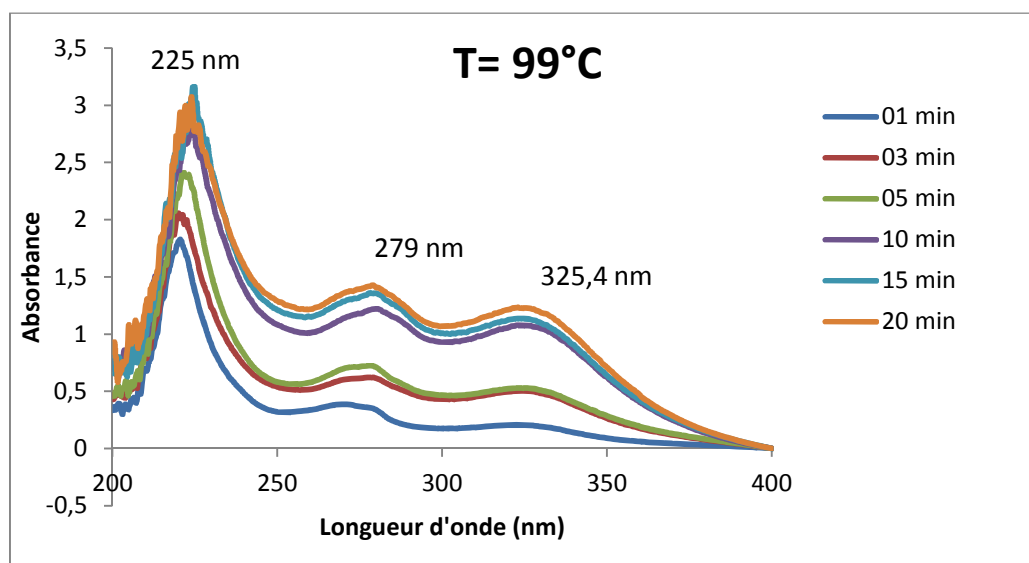
Temps (min)	A(III)/A(I)	A(III)/A(II)	A(II)/A(I)
1	6,366	4,330	1,470
3	3,609	2,730	1,322
5	3,089	2,412	1,281
10	2,788	1,990	1,40
15	2,713	2,023	1,341
20	2,656	2,004	1,325

Les résultats du tableau (III.10) confirment que les extractions relatives aux deux bandes I et II ne varient presque pas avec le temps, ainsi que les valeurs des rapports  $A(III)/A(I)$  et  $A(III)/A(II)$  diminuent avec le temps.

#### III.1.1.6. Infusion à $T=99^{\circ}\text{C}$

Les spectres d'absorption UV obtenus à la température d'infusion de  $99^{\circ}\text{C}$  sont représentés dans la figure III.11

On remarque trois bandes d'absorption importantes à 225 nm, 279 nm et 325,4 nm. Les absorbances maximales correspondantes aux trois bandes, augmentent avec le temps d'infusion.

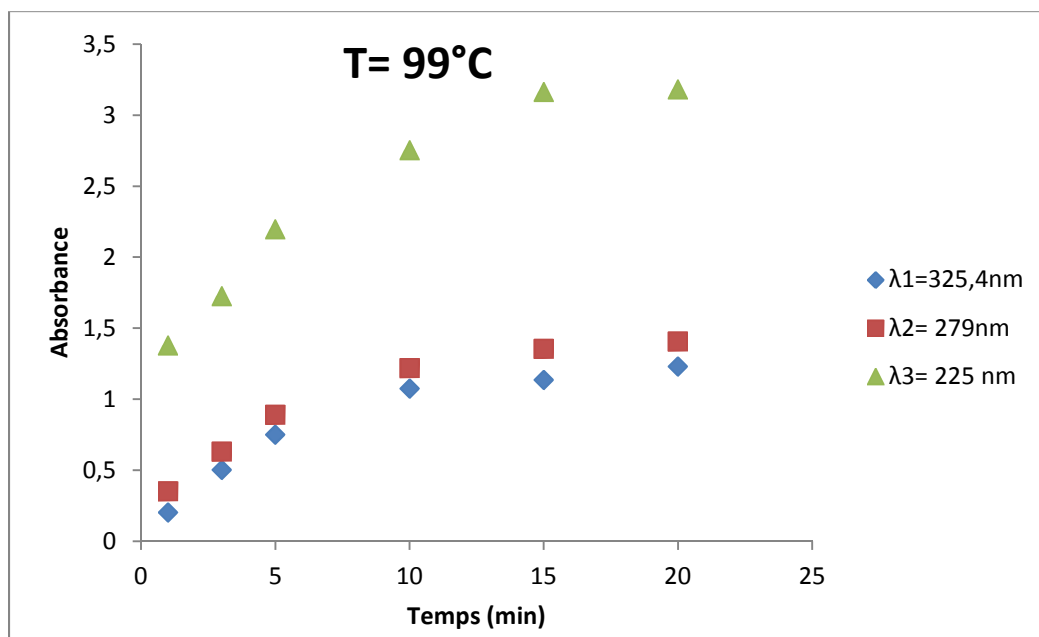


**Figure III.11**: Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes durées d'infusion.

(Température= $99^{\circ}\text{C}$ , volume d'eau=100 ml, masse du thym= 0,1g).



La cinétique d'extraction des composés caractérisés par ces trois bandes maximales est représentée dans la figure III.12



**Figure III.12 :** Cinétique d'infusion du thym dans l'eau Djurdjura à T = 99°C

Les valeurs de la variation de l'absorbance maximale par unité de temps sont représentées dans le tableau III.11

**Tableau III.11 :** Les variations des absorbances par unité de temps à T = 99°C

Temps (min)	$\Delta A / \Delta t$ 325,4 nm	$\Delta A / \Delta t$ 279 nm	$\Delta A / \Delta t$ 225 nm
0	/	/	/
1	0,202	0,35	1,379
3	0,150	0,14	0,173
5	0,124	0,13	0,235
10	0,065	0,066	0,111
15	0,012	0,027	0,082
20	0,019	0,010	0,004

D'après les valeurs du tableau III.11, les vitesses moyennes d'extraction des molécules absorbantes aux bandes d'absorption I et II diminuent considérablement pendant les quinze premières minutes (15 min), et devient constante et faible (plus de 1/10 de la vitesse moyenne

à la première minute d'extraction) dans l'intervalle de temps [15 min – 20 min]. La cinétique relative à la bande III (BIII) est très importante dès la première minute de contact, au-delà d'une minute, elle diminue considérablement et devient négligeable (1/7 de la vitesse moyenne à la première minute) dans l'intervalle de temps [15 min – 20 min].

En conclusion, nous déduisons que la vitesse d'infusion est rapide au début du contact, après cette vitesse diminue au cours du temps. Nous déduisons aussi que les cinétiques relatives à des bandes I et II sont presque semblable, ceci l'extraction des composées de thym se fait aux mêmes temps. Par contre la cinétique relative à la bande d'absorption III est différente de celles des bandes I et II, l'extraction des composés qui absorbent dans cette bande est très rapide au départ et devient très lente après une minute d'infusion.

Les valeurs du rapport des absorbances maximales des bandes sont représentées dans le tableau III.12.

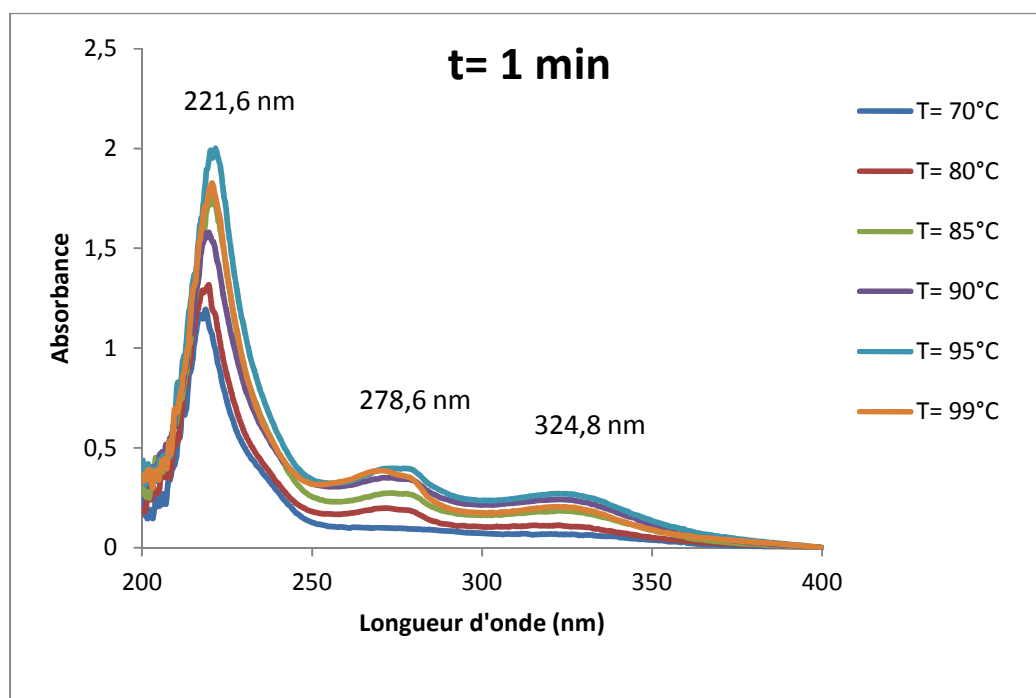
**Tableau III.12 :** Résultats des rapports d'absorbances maximales à différentes durées

Temps (min)	A(II)/A(I)	A(III)/A(I)	A(III)/A(II)
1	1,733	6,827	3,94
3	1,257	3,443	2,738
5	1,187	2,928	2,467
10	1,133	2,561	2,260
15	1,194	2,788	2,335
20	1,144	2,587	2,262

Les résultats du tableau III.12 confirment les constatations précédentes, à savoir : Les extractions relatives aux deux bandes I et II ne varie pas presque avec le temps, tandis que les valeurs des rapports A(III)/A(I) et A(III)/A(II) diminuent avec le temps.

### III.1.2. Effet de la température d'infusion

#### III.1.2.1. Infusion à t = 1 min



**Figure III.13 :** Spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes températures d'infusion. (Durée= 1 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g)

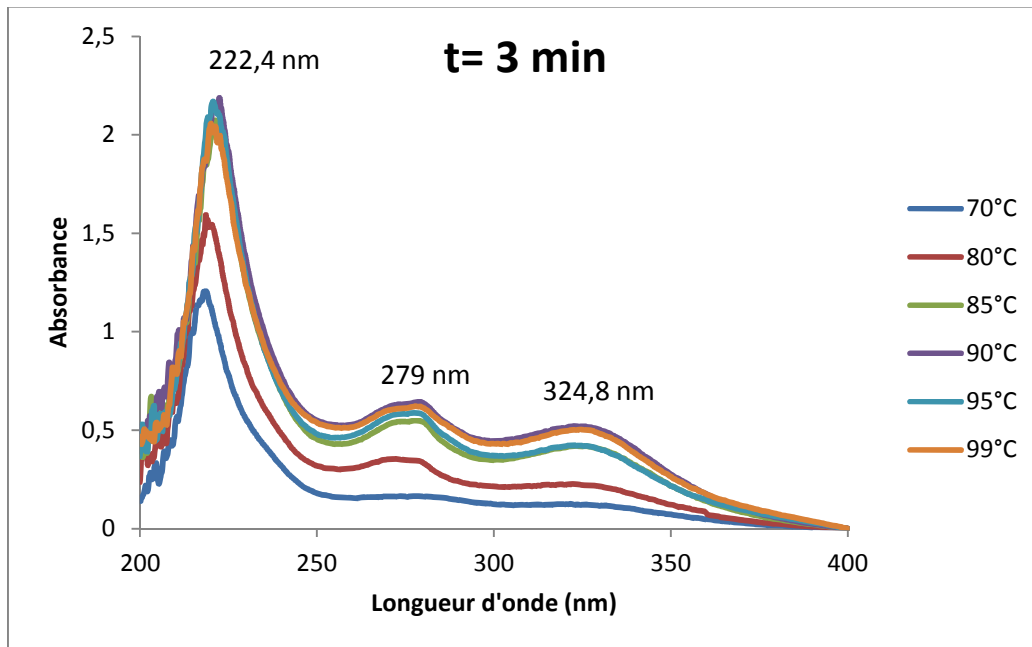
Dans la figure III.13 sont représentés les spectres d'absorption des liqueurs de thym à différentes températures d'infusion ( $T=70^{\circ}\text{C}$ ,  $80^{\circ}\text{C}$ ,  $85^{\circ}\text{C}$ ,  $90^{\circ}\text{C}$ ,  $95^{\circ}\text{C}$ ,  $99^{\circ}\text{C}$ ). On remarque trois bandes d'absorption UV importantes, la bande I est caractérisée par une longueur d'onde maximale égale à  $324,8\text{ nm}$  qui correspond à l'absorbance des isoflavone, la bande II est caractérisée par une longueur d'onde maximale égale à  $278,6\text{ nm}$  correspondant à l'absorbance des flavanols et la bande III est caractérisée par une longueur d'onde égale à  $221,6\text{ nm}$  qui correspondant à l'absorbance des polyphénols [106].

Pour étudier l'effet de la température sur l'infusion à un temps  $t$ , nous avons calculé les valeurs de la variation relative de l'absorbance maximale données en pourcentage par l'expression :  $100 * (A_2 - A_1) / A_1$  pour comparer entre deux températures consécutives.

D'après la figure III.13, Les absorbances maximales sont plus importantes à  $95^{\circ}\text{C}$ , les valeurs de la variation relative obtenues en passant de  $90^{\circ}\text{C}$  à  $95^{\circ}\text{C}$  sont 12,97%, 14,83% et 35,02% respectivement pour les bandes I, II et III. Ces valeurs sont positives et importantes pour les trois bandes, ce qui signifie que le rendement de l'infusion à  $95^{\circ}\text{C}$  est meilleur que celui de  $90^{\circ}\text{C}$ . Nous pouvons conclure que pour une minute d'infusion, la température  $95^{\circ}\text{C}$  donne un meilleur rendement.

### III.1.2.2. Infusion à t= 3 min

Les spectres d'absorption UV obtenus pour cette durée sont représentés dans la figure III.14



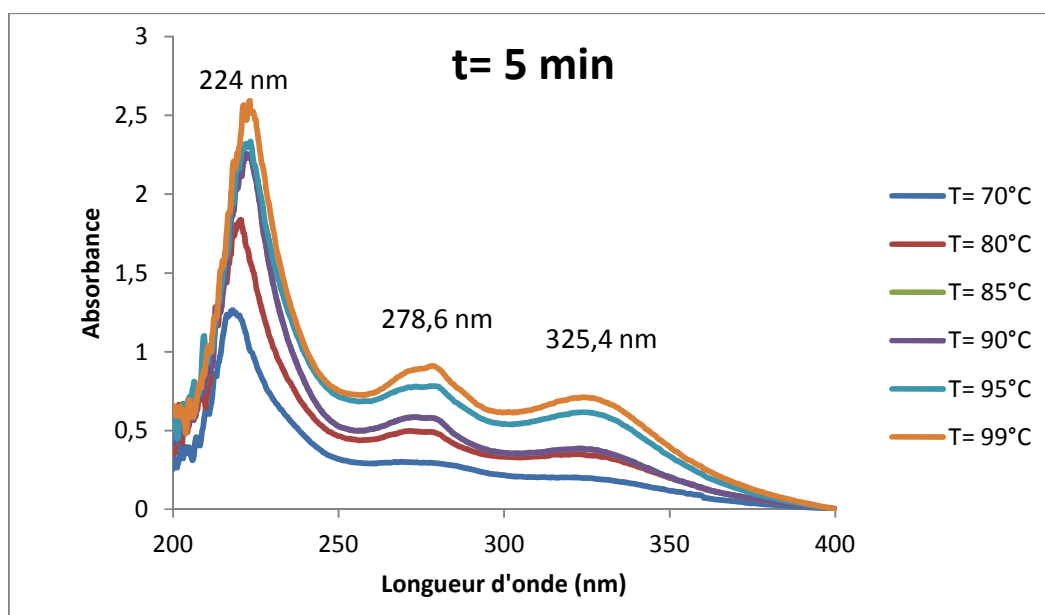
**Figure III.14** : Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différentes températures.

(Durée= 3min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g)

On remarque trois bandes d'absorption importantes à 324,8 nm, 279 nm et 222,4 nm. Les absorbances maximales augmentent avec l'augmentation de la température jusqu'à  $T= 90^{\circ}\text{C}$ . Nous pouvons conclure que pour un temps d'infusion de trois minutes, la température  $90^{\circ}\text{C}$  donne un meilleur rendement.

### III.1.2.3. Infusion à t= 5 min

Les spectres d'absorption UV obtenu pour cette durée sont représentés dans la figure III.15

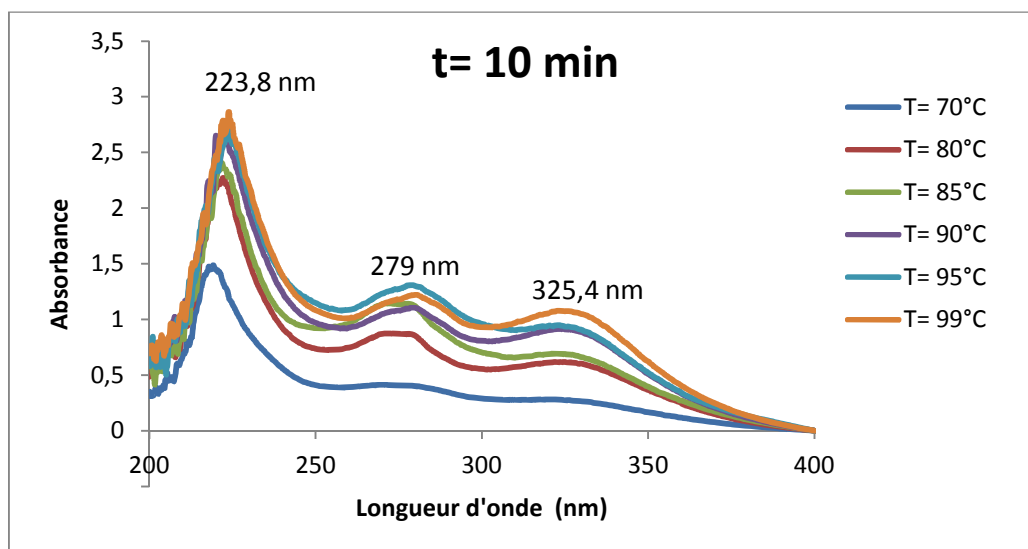


**Figure III.15:** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différents températures. (Durée= 5 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g)

On remarque trois bandes d'absorptions importantes à 325,4 nm, 278,6 nm et 224 nm. Les absorbances maximales augmentent avec l'augmentation de la température à 99°C, ce qui permet de déduire que la température optimale à la durée d'infusion de 5 min est T= 99°C.

#### III.1.2.4. Infusion à t= 10 min

Les spectres d'absorption UV obtenus pour cette durée sont représentés dans la figure (III.16)

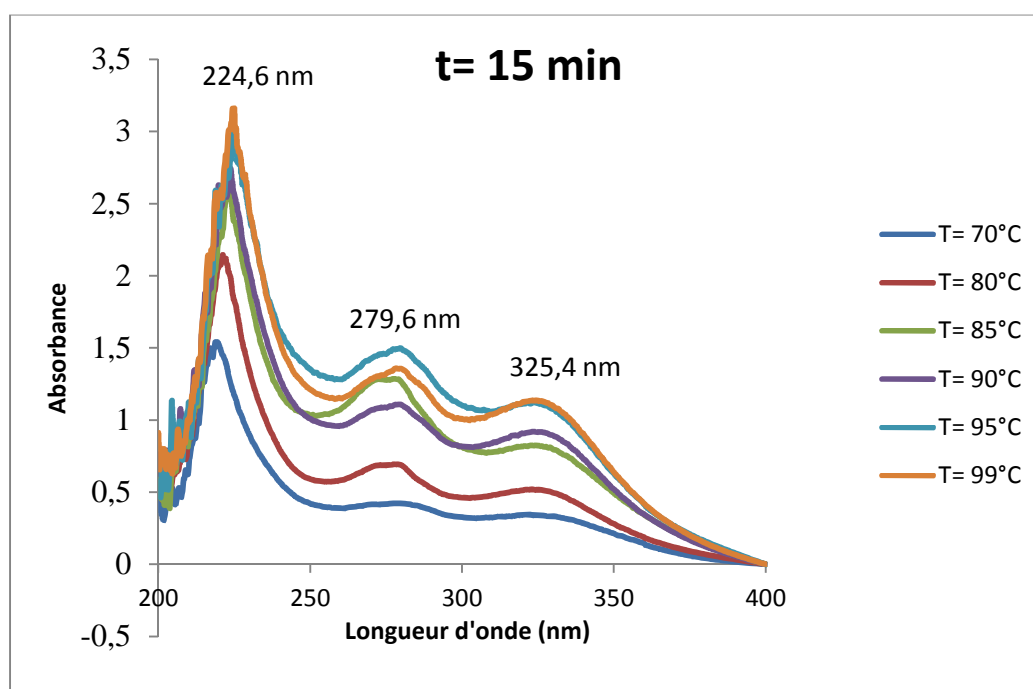


**Figure III.16:** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différents températures. (Durée= 10 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g)

On remarque trois bandes d'absorptions importantes à 325,4 nm, 279nm et 223,8 nm. Les absorbances maximales de la bande I et III augmentent avec l'augmentation de la température jusqu'à la température  $T= 99^{\circ}\text{C}$ , par contre les absorbances maximales de la bande II sont plus importantes à  $T= 95^{\circ}\text{C}$ . En fonction de ce qu'on veut privilégier (ce qu'on veut obtenir comme composés), On choisit  $95^{\circ}\text{C}$  (bande II) ou  $99^{\circ}\text{C}$  (bandes I et III).

### III.1.2.5. Infusion à $t= 15$ min

Les spectres d'absorption UV obtenus pour cette durée sont représentés dans la figure (III.17)



**Figure III.17 :** Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différentes températures.

(Durée= 10 min, Volume d'eau= 100 ml, Masse du thym= 0,1 g)

On remarque trois bandes d'absorptions importantes à 325,4 nm, 279,6 nm et 224,6 nm. Les absorbances maximales de la bande I et III augmentent avec l'augmentation de la température jusqu'à la température  $T= 99^{\circ}\text{C}$ , par contre les absorbances maximales de la bande II sont plus importantes à  $T= 95^{\circ}\text{C}$ . Selon les composés désirés, On choisit  $95^{\circ}\text{C}$  (bande II) ou  $99^{\circ}\text{C}$  (bandes I et III).

En conclusion, nous pouvons conclure que les températures adéquates à l'infusion du thym dans l'eau Djurdjura sont de  $90^{\circ}\text{C}$  à  $99^{\circ}\text{C}$ . Cela dépend du temps d'infusion et des composés que l'on veut extraire.

Cependant, on conclut l'effet de la température sur l'infusion de thym : l'absorbance d'infusion de thym pour chaque longueur d'onde maximale est améliorée avec l'augmentation de la température d'infusion. En effet, cette amélioration est probablement due à l'augmentation de la solubilité des composés cibles dans l'eau avec l'augmentation de la température de l'eau. Cependant, l'augmentation de la température est limitée par la réactivité de l'eau et la sensibilité des composés cibles à la dégradation thermique.

### III.1.3. Variations du pH et de la conductivité électrochimique des liqueurs de thym

**Tableau III.13:** Valeurs de pH et de conductivité pour différents masses

Masses de thym (g)	pH	Cond ( $\mu\text{s}/\text{cm}$ )
E.S	7,89	723
0,1	7,86	746
0,15	7,86	792
0,2	7,86	797
0,25	7,56	810

D'après les résultats obtenus et représentés sur le tableau (III.13), on remarque qu'en augmentant le rapport de masse (thym/eau), le pH diminue par contre la conductivité électrochimique augmente ce qui peut être due à une extraction croissante des acides phénoliques.

### III.2. Effet de la qualité de l'eau sur l'infusion de thym:

#### III.2.1. Spectres d'absorption UV des liqueurs de thym à différentes qualités d'eaux à la température $T=70^{\circ}\text{C}$ et à deux durées d'infusion ( $t=3\text{ min}$ et $t=10\text{ min}$ ).

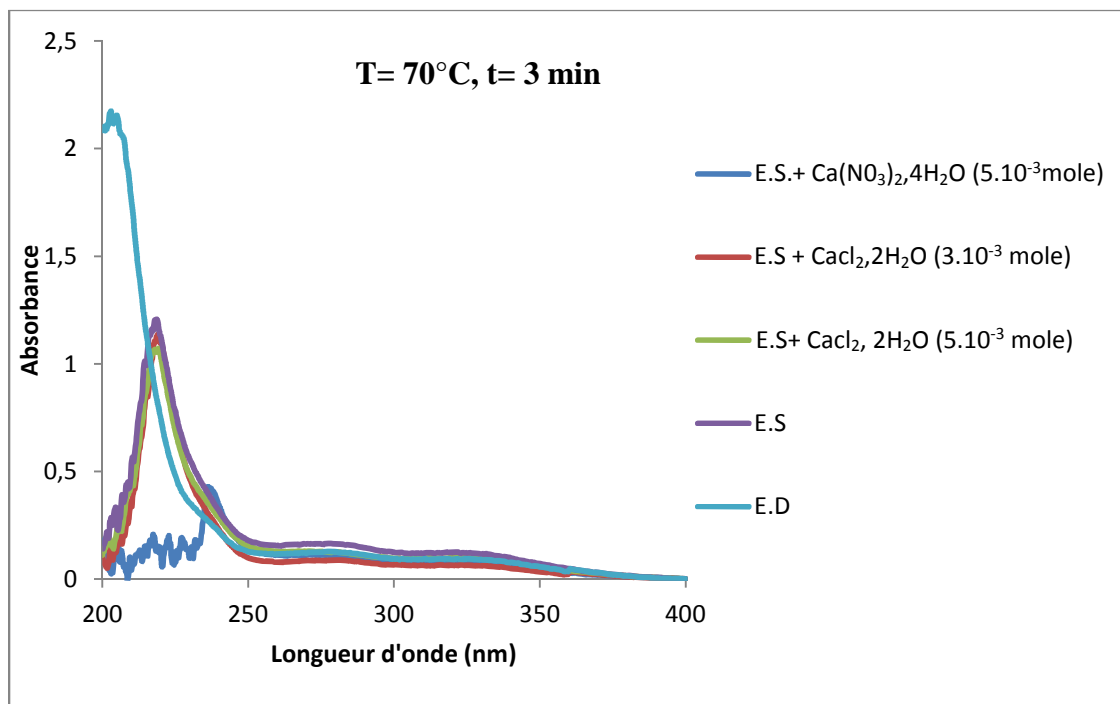


Figure III.18 : Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différentes qualité d'eau

( $T = 70^\circ\text{C}$ ,  $t = 3 \text{ min}$ ,  $m = 0,1 \text{ g}$ )

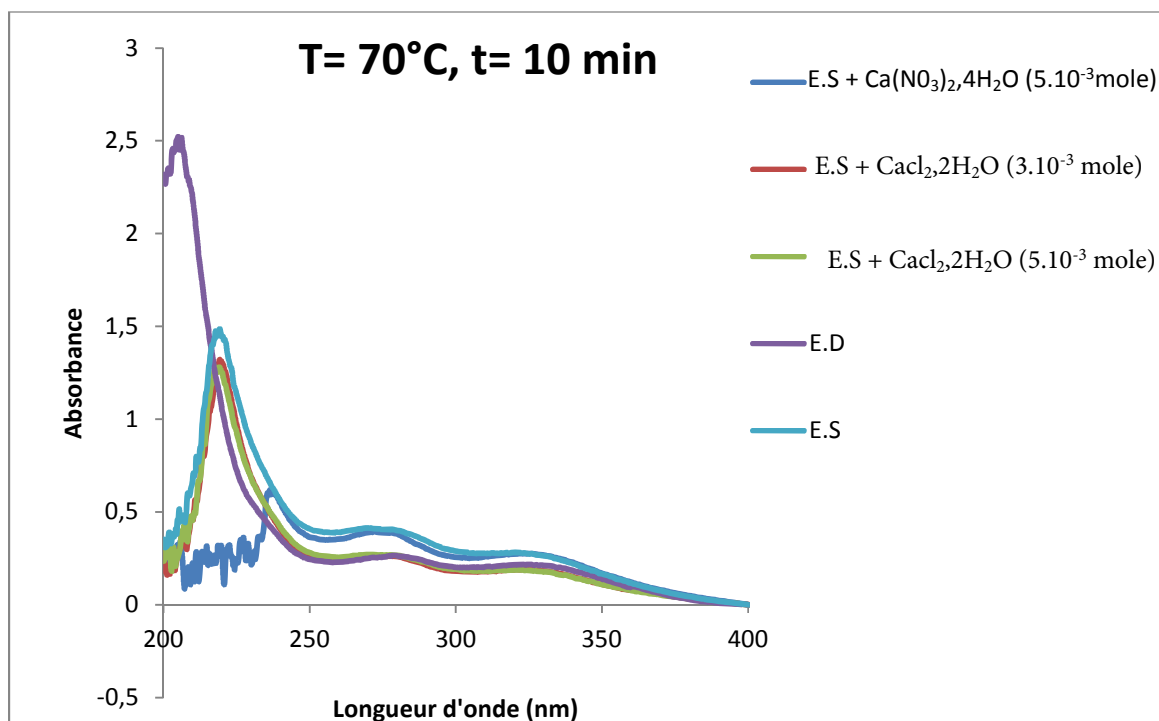
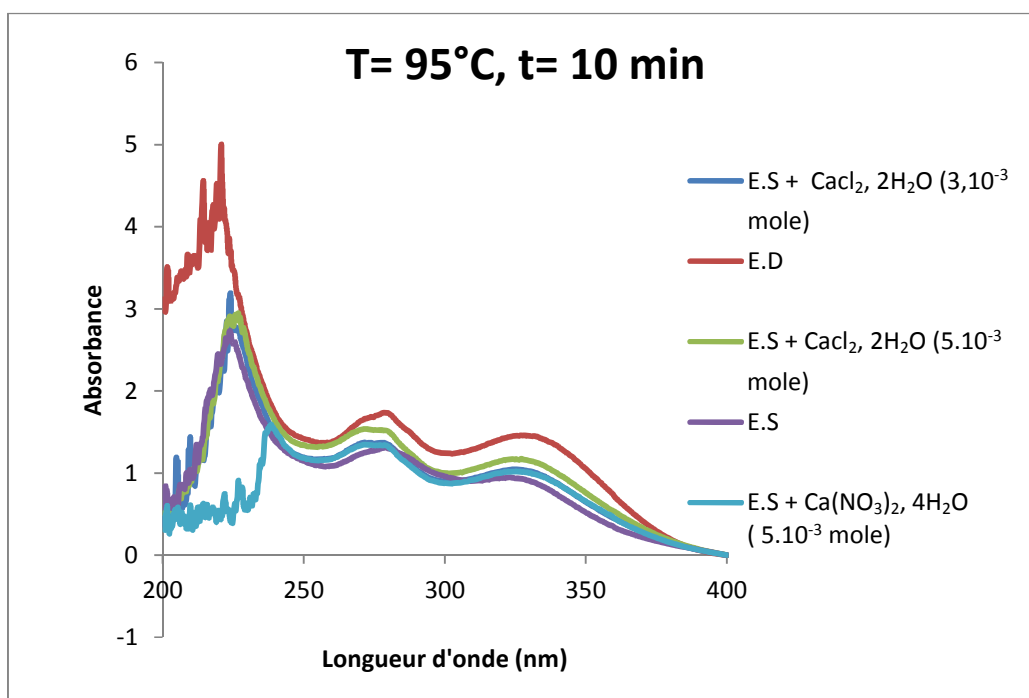


Figure III.19: Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différente qualité d'eau

( $T = 70^\circ\text{C}$ ,  $t = 10 \text{ min}$ ,  $m = 0,1 \text{ g}$ )



Les figures III.18 et III.19 représentent l'effet de la qualité de l'eau utilisée sur l'extraction des composés organiques à partir des feuilles de thym, pour cela nous avons utilisé différentes eaux (tableau II.1). L'infusion a été faite à une température 70°C et pour deux durées 3 min et 10 min. Dans tous les cas, les spectres obtenus comportent trois bandes d'absorption, les bandes I et II sont caractérisés par des longueurs d'ondes correspondantes aux absorbances maximales qui ne varient pas avec les différentes eaux, par contre, la bande III est très influencée par la qualité de l'eau utilisée. On constate un déplacement bathchromique et hypochromique de la B(III) des spectres des liqueurs obtenue en utilisant l'ES par rapport à l'ED. Selon la bande III, l'absorbance est plus importante en utilisant l'eau distillée et moins importante en utilisant l'eau contenant les nitrates de calcium  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ , les spectres obtenus avec l'ES,  $\text{ES}+(\text{CaCl}_2)^{\text{H}}$  et  $\text{ES}+(\text{CaCl}_2)^{\text{B}}$  sont presque identiques et montrent la même longueur d'onde maximale. L'ajout de  $\text{CaCl}_2$  à l'ES n'a pas influé d'une manière claire les spectres UV obtenus. Néanmoins les spectres de l'ES et de l'ES contenant des chlorures de calcium ont subi un effet bathchromique de l'ordre de (15,6 nm) et hypochromique de l'ordre (0,977) par rapport au spectre obtenu avec de l'eau distillée. La présence des sels a provoqué une diminution de l'extraction des composées organiques des feuilles de thym, ceci peu être expliqué par le fait que certains cations ou anions des sels existants dans l'ES pourrait être adsorbé sur les feuilles de thym et donc limiter par la suite l'extraction des différents composées organiques. Les spectres UV obtenus avec l'ES +  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  suivant la bande (III) à subi aussi un déplacement bathchromique et hypochromique plus important par rapport aux spectres sans nitrate, ce qui signifie que la présence des ions (nitrate) influe négativement l'extraction par rapport au ions chlorure.



**Figure III.20** : Spectre d'absorption des liqueurs de thym à différentes qualités d'eau

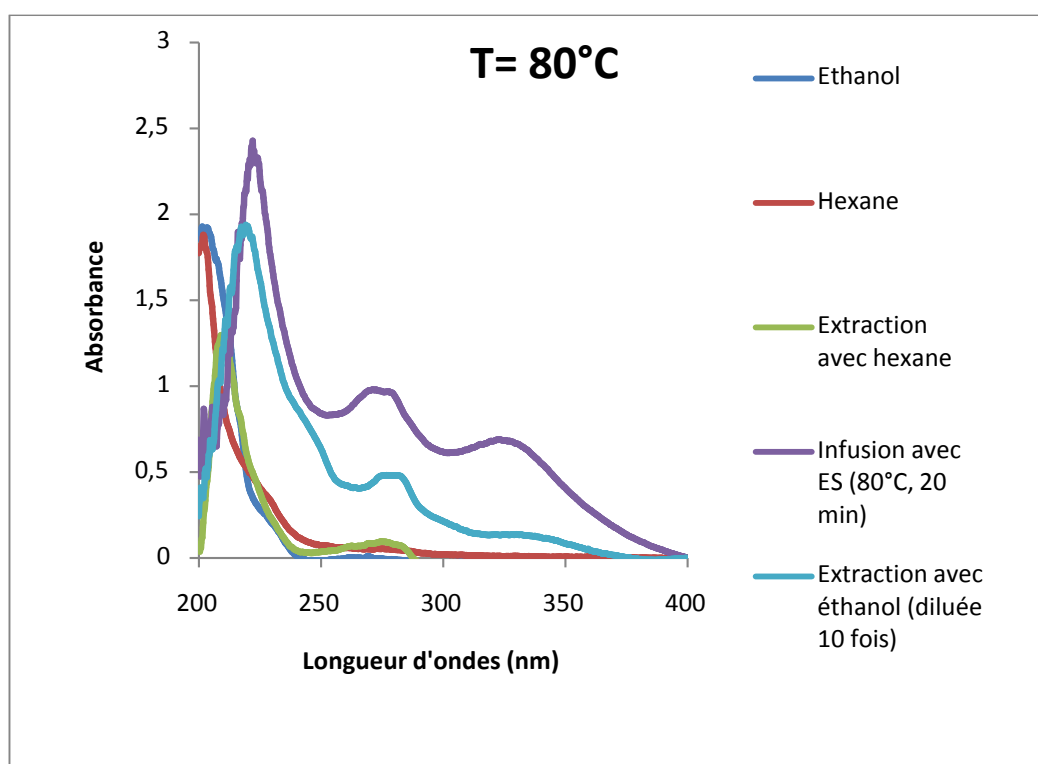
(T= 95°C, t= 10 min, m= 0,1 g)

La figure III.20 représente l'effet de la qualité de l'eau utilisée pour l'extraction des composés organiques à partir des feuilles de thym. L'infusion a été faite à une température 95°C et une durée de 10 min. Dans ce cas les spectres obtenus comportent trois bandes d'absorption, les bandes I et II sont caractérisés par des longueurs d'ondes correspondantes aux absorbances maximales qui varient peu avec les différentes eaux, par contre, la bande III est très influencée par la qualité de l'eau utilisée. On constate selon la bande III que l'absorbance est plus importante en utilisant l'eau distillée et moins importante en utilisant le nitrate de calcium Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Les spectres obtenus avec l'ES, ES+(CaCl<sub>2</sub>)<sup>H</sup> et ES+ (CaCl<sub>2</sub>)<sup>B</sup> sont presque identiques et absorbent aux mêmes longueurs d'onde maximales. Néanmoins le spectre de l'ES a subi un effet bathchromique de l'ordre de (+3 nm) et hypochromique de l'ordre (- 2,266) par rapport au spectre obtenu avec de l'eau distillée. En effet, les spectres de l'ES contenant des chlorures de calcium subit un léger déplacement, hyperchrome de l'ordre (+ 0,112) par rapport aux spectres obtenus avec de l'eau de source (ES). La présence des sels ont provoqué une augmentation de l'extraction des composés organiques des feuilles de thym, ceci peut-être expliqué par le fait que les composés existants et qui absorbent à la longueur d'onde 220,8 nm ont une affinité avec certains cations ou anions des sels existants dans l'ES et pourraient être pénétrés dans les feuilles de thym, en effet la solubilité de ces

composés dans l'eau contenant des sels sera améliorée lorsqu'on réalise l'extraction à des températures élevées. La présence des ions (nitrate) influe négativement sur l'extraction par rapport aux ions (Cl<sup>-</sup>) particulièrement sur la bande d'absorption III.

### III.2. Extraction de thym par « Soxhlet »

Lors de l'extraction des composés organiques par solvant organique (éthanol, hexane), des phénomènes physico-chimiques sont à la base d'échanges de matière entre le solide (thym) et le solvant d'extraction (éthanol, hexane).



**Figure III.20:** Spectres d'absorption UV d'extrait de thym obtenu par Soxhlet avec l'hexane et l'éthanol pour  $t=10h$ . (Température= 80°C,  $V(\text{solvant})= 50\text{ml}$ ,  $m(\text{thym})= 0,5\text{g}$ ).

#### III.2.1 : Effet de solvant organique:

D'après les résultats obtenus représentés sur la figure III.20, nous constatons comme dans l'infusion du thym dans l'eau Djurdjura, trois bandes d'absorption UV en utilisant le solvant organiques éthanol, les bandes I, II et III sont à la même longueur d'onde maximale pour les deux solvants ce qui signifie que ces solvants (eau et éthanol) extraient les mêmes composés organiques qui sont polaires tel que les composés phénoliques. Par contre, pour le spectre obtenu avec l'extraction par l'hexane on remarque la disparition de la bande I, la bande II absorbe à la même longueur d'onde avec les spectres d'absorptions obtenus avec

l'extraction de l'éthanol et de l'eau, et la bande III subit un effet hypsochromique par rapport aux spectres en utilisant l'eau de source et éthanol. Les absorbances relatives aux longueurs d'ondes de la bande(III) augmentent de l'hexane à l'eau en passant par l'éthanol. Nous constatons aussi que l'éthanol extrait mieux que l'hexane. Ce résultat est probablement dû au fait que les composés non volatils extraits de thym sont beaucoup plus solubles dans l'éthanol que dans l'hexane. Ce faible rendement d'extraction peut être expliqué par la faible polarité de ce solvant. Les composés polaires n'ont pas d'affinité pour ce type de solvant.

# ***CONCLUSION GENERALE***

## Conclusion générale

Ce modeste travail est une contribution à l'étude de l'extraction du thym par deux méthodes, l'infusion dans l'eau et l'extraction par « soxhlet » dans deux solvants organiques, l'hexane et l'éthanol. Notre objectif est d'étudier les différents paramètres qui peuvent avoir le plus d'influence sur l'infusion, de comparer les performances de ces techniques d'extraction et de choisir le bon solvant d'extraction du thym. La technique d'analyse spectrophotométrique UV-visible a été sélectionnée comme étant une méthode simple pour la caractérisation et le suivi de l'opération d'extraction.

Nous sommes arrivés aux résultats suivants :

1) Concernant l'étude de l'infusion du thym dans l'eau :

- ✓ Les spectres d'absorption UV des liqueurs contiennent trois bandes importantes : La bande I (BI) avec une absorbance maximale correspondant à la longueur d'onde 325,4 nm, la bande (BII) située à 279 nm et la bande (BIII) repérée à une longueur d'onde qui varie dans l'intervalle [221,4 nm – 225 nm] en fonction des paramètres d'infusion. Les bandes I, II et III correspondent respectivement aux absorbances des isoflavones, flavanols et polyphénols.
- ✓ Les absorbances des liqueurs de thym augmentent avec le temps d'infusion par le fait de l'augmentation de la concentration de ces liqueurs puisque selon Beer-Lambert, l'absorbance est proportionnelle à la concentration dans son intervalle de linéarité.
- ✓ La vitesse d'infusion est élevée durant la première minute, au-delà de ce temps, la vitesse moyenne d'infusion diminue d'une manière rapide (1min à 5 min) puis cette diminution devient moins importante (presque nulle) (15 min à 20 min). Ceci peut être expliqué par la variation du gradient de concentration des composés organiques à extraire des feuilles de thym.
- ✓ Les absorbances maximales des liqueurs de thym augmentent avec l'augmentation de la température en allant de 70°C à 99°C, néanmoins, on remarque que l'extraction est très importante à partir de 90°C. Ceci est peut être due à la grande solubilité dans l'eau, des composés concernés aux températures élevées. L'augmentation de la température est localisée

par la réactivité de l'eau et la sensibilité des composés concernés à la dégradation thermique. La température optimale d'extraction des composés polyphénols et isoflavones est de 99°C, par contre pour les composés flavanols, elle est de 95°C.

✓ L'eau distillée a un pouvoir extractant plus important que les autres eaux contenant des sels, ce qui signifie que certains cations et/ou anions présents dans l'eau Djurdjura limite l'extraction. L'ajout de  $\text{CaCl}_2$  à l'eau Djurdjura n'a pas influé d'une manière nette l'extraction malgré la grande affinité du calcium pour les composés pariétaux (comme les pectines) constitutifs de la feuille de thym. L'ajout de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  à l'eau Djurdjura a influé négativement sur la bande d'absorption III, cette dernière subit en présence de  $\text{NO}_3^-$ , un déplacement hypochromie et hypsochromie.

2) Concernant les résultats de l'étude d'extraction par soxhlet, le spectre d'absorption obtenu en utilisant l'éthanol comme solvant d'extraction, présente trois bandes d'absorption. Les bandes I et II sont situées aux mêmes longueurs d'onde maximales que celles obtenues avec l'eau, par contre, concernant la bande III, on constate un petit déplacement bathochromie de l'ordre de 10 nm. Nous pouvons conclure que l'eau et l'éthanol extraient les mêmes composés organiques polaires tels que les composés phénoliques du fait que ces solvants sont tous les deux polaires.

Le spectre d'absorption obtenu en utilisant l'hexane comme solvant d'extraction, présente deux bandes d'absorption seulement, les absorbances sont faibles, comparées aux absorbances obtenues avec l'éthanol. Nous pouvons conclure qu'une partie des composés organiques polaires n'est pas extraite par l'hexane.

En final, nous pouvons dire que la technique d'analyse UV-Visible est une méthode qui nous a fournit pas mal d'informations qualitatives sur les composés contenus dans les liqueurs de thym. Une étude plus approfondie des spectres enregistrés moyennant les outils de la chimométrie pourrait nous procurer plus de renseignements sur la composition qualitative et quantitative de ces mélanges.

***REFERANCES***  
***BIBLIOGRAPHIQUES***



## Références bibliographiques

- [1]: Waridel P. *P. pectinatus* L., *P. lucens* L., *P. perfoliatus* L. et *P. crispus* L. (Potamogetonaceae), thèse de doctorat de « Investigation phytochimique des plantes aquatiques Potamogeton » l'université de Lausanne, **2003**.
- [2]: Herzi N., thèse doctorat « Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO<sub>2</sub>-supercritique et des techniques conventionnelles », Université de Toulouse, **2013**.
- [3]: Gabriela Bernardo-Gil et Jose AbecassisEmpi, Projet Européen, *thymus zygis* L, un thym du nord Portugal, Instituto superior tecnico , **1998** .
- [4]: fiche plante le thym à l'abri des l'infections de l'hiver (en ligne) :[http://www.ponroy.com/ml/images/content/conseils\\_sante/pdf\\_conseils\\_sante/le\\_thym.pdf](http://www.ponroy.com/ml/images/content/conseils_sante/pdf_conseils_sante/le_thym.pdf).
- [5]: Aiboud K., mémoire de magister thème « Etude de l'efficacité de quelques huiles essentielles à l'égard de la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae) et impacts des traitements sur la germination des graines de *Vigna unguiculata* (L.) Walp, **2012**.
- [6]: Lieutaghi P. Petite ethnobotanique méditerranéenne. Editions Actes Sud, 334p.**2006**.
- [7]: Zeghad N., mémoire de magister « Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*) et évaluation de leur activité antibactérienne », Université Mentouri Constantine, **2009**.
- [8]: Ebrahimi N.S, Hadian J, Mirjalili M.H, Sonboli A, et Yousefzadi M. Essential oil composition and antimicrobial activity of *Thymus caramanicus* at different phenological stages, *Food chemistry*, **2008**.
- [9]: Thompson J. Thyme: The genus *Thymus*. Populations structure and the spatial dynamics in thyme, **2002**.

- [10]: Quezel P., et Santa S. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Ed Centre National de la recherche scientifique, **1963**.
- [11]: Damerdji A., article « La faune malacologique sur différentes plantes médicinales dans la région de Tlemcen (Algérie nord-occidentale) », Université de Tlemcen Algérie, Afrique SCIENCE 08(1) 79 – 87, ISSN 1813-548X, <http://www.afriquescience.info>, courriel damerdji\_halim@yahoo.fr, **2012**.
- [12]: Soto-Mendivil E.A, Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Fajardo JA et Obledo- Vazquez E.N – Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of thymus vulgaris against Alternariacirti- E-Gnosis [online] : Vol. 4 ; N°16, **2006**.
- [13]: Özcan M. et Chalcha J. C. Aroma profile of Thymus vulgaris L growing wild in Turkey. Bulgarian journal of plant physiology.,30 (3-4) : 68-73, **2004**.
- [14]: Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. Bioscience, biotechnology and biochemistry, 68 (5): 1113- 1134, **2004**.
- [15]: Naghibi F., Mosaddegh M, Motamed S.M, Ghorbani A. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 4(2): 63-79, **2005**.
- [16]: Dob T., Darhmane D., Benabdelkader T. Chelghoum T.C.Int. J. Aromatherapy, 16: 95-100, **2006**.
- [17]: Mebarki N., thèse de magistère de chimie, Université –M'Hamed Bougara-Boumerdes, **2010**.
- [18]: Nikavar B., Mojab F, Doulat-Abadi R, Food chemistry 90(4):609-611, **2005**.
- [19]: Benayache F., mémoire magister « Etude phytochimique et biologique de l'espèce Thymus numidicus Poiret », Université Constantine 1, **2013**.
- [20]: Madi A., Mémoire de magister « Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Saugé) et la mise en évidence de leurs activités biologiques », Université Mentouri Constantine, **2010**.

- [21] : Ebrahimi S. N, Mirjalili J.H, Sonboli A, Yousefzadi M- Essential oil composition and antibacterial activity of *Thymus caramanicus* at different phonological stages- Journal Food Chemis ; Vol. 10; pp 1016, **2008**.
- [22] : Rasooli I, Rezaei M.B, Allameh A- Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*- International Journal of Infectious Diseases; Vol. 10; pp 236-241, **2006**.
- [23]: Cosentino S., Tuberoso C.I.G, Pisano B, Satta M, Mascia V, Arzedi E and Palmas F-In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils- Letters in Applied Microbiology; Vol. 29; pp 130-135, **1999**.
- [24]: Djerroumi A., etNacef M. 100 plantes médicinales d'Algérie. Ed Palais du livre. P 135 - 131, **2004**.
- [25]: Adwan G., Abu-Shanab B, Adwan K, Abu-shanab F – Antibacterial Effects of Nutraceutical Plants Growing in Palestine on *Pseudomonas aeruginosa*- Turk J Biol; Vol. 30. pp 239-242, **2006**.
- [26]: Soto-Mendivil E.A., Moreno-Rodriguez J.F, Estarron-Espinosa M, Garcia-Farjado JA et Obledo-Vazquez E.N – Chemical composition and fungicidal activity of the essential oil of *Thymus vulgaris* against *Alternariacitri*- E- Gnosis[online] ; Vol. 4; N° 16, **2006**.
- [27]: Hans W.K. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition, **2007**.
- [28]: Radulescu V., Silvia C, et Eliza O, Capillary gas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *Salvia officinalis*, Journal of Chromatography A, 1027 : 121-126, **2004**.
- [29]: Bazytko A. et Strzelecka H. A HPTLC densitometric determination of luteolin in *Thymus vulgaris* and its extracts, *Fitoterapia*.,78 : 391-395, **2007**.

- [30]: Jiménez-Arellanes A., Martínez R, García R, León-Díaz R., Aluna-Herrera J, Molina – Salinas G, et Said-Fernández S, thymus vulgaris as a potential source of antituberculosis compounds, *pharmacologyonline*, 3 : 569-574, **2006**.
- [31]: Al-Bayati F. A. Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 166 (3) : 403-406, **2008**.
- [32]: Takeuchi H., Lu Z. G. et Fujita T. New monoterpenes glycoside from the aerial parts of Thyme (*Thymus vulgaris* L). *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 68 (5) : 1113-1134, **2004**.
- [33]: Golmakani M. T. et Rezaei K. Comparaison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109 : 925-930, **2008**.
- [34]: Selmi S. et Sadok S. The effect of natural antioxidant (*Thymus vulgaris* Linnaeus ) on flesh quality of tuna (*Thunnus* Linnaeus) during chilled storage. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 3 (1) : 36-45, **2008**.
- [35]: Cowan M. M. *Clinical microbiology reviews*, 12: 564-570, **1999**.
- [36]: Bazylo A. et Strzelecka H. *Fitoterapia*, 78: 391-395, **2007**.
- [37]: Özcan M. et Chalcha J. C. *Bulgarian journal of plant physiology*, 30 (3-4): 68-73, **2004**.
- [38]: Medić-Šarić M, Jasprica I, Smolčić-Bubalo A. et Monar A. Optimisation chromatography of flavonoids and phenolic acids. *CROATICA CHEMICA ACTA CCACAA*, 77 (1-2) : 361-366, **2004**.
- [39]: Hadi M., thèse de doctorat « La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres : Etudes et applications thérapeutiques », Université Louis Pasteur, **2004**.

- [40] : Rania A., thèse de doctorat « Complexation des protéines lactières par les extraits de gousses vertes de caroubier : Propriétés technologiques des coagulums obtenus », Université de Paris, **2007**.
- [41] : Emerenciano V. P, Barbosa K. O, Scotti M. T, et Ferrero M. J. P. Journal of Brazilian chemical society, 18 (5) : 891-899, **2007**.
- [42] : Nagendran B., Kalyana S, et Samir S, Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99 : 191–203, **2006**.
- [43] : Narayana K. R, Reddy M. S, Chaluvadi M. R. et Krishna D. R. Indian journal of pharmacology, 33: 2-16, **2001**.
- [44] : Malešev D., Kuntić V., Journal of the Serbian chemical society, 72 (10) : 921-939, **2007**.
- [45] : Regnault-Roger C., Ribodeau M., Hamraoui A., Bateau I., Blanchard P, Gil-Munoz M-I, Thomas-Barberan, Journal of Stored Products Research 40: 395–408, **2004**.
- [46] : Martos, I, Cossentini, M, Ferreres, F. and Tomas-Barberan, F.A. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45: pp. 2824-9, **1997**.
- [47] : Merghem R, Jay M, Viricel, M-R, Bayet C, Voirin B, Phytochemistry 38, : 637–640, **1995**.
- [48] : Corticchiato M., Bernardini A., Costa J., Bayet C, Saunois A, Voirin B. Phytochemistry, 40: 115–120, **1995**.
- [49] : Barberán F.A.T, Hernández L, Tomás F. Phytochemistry. 25: 561–562, **1986**.
- [50] : Sarmi M.P., et Cheymer V. Les polyphénols en agroalimentaire. Ed Lavoisier. P2 -10, **2006**.
- [51] : Poirot R., thèse doctorat « méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté à partir de matière végétale », Institut National Polytechnique de Toulouse, **2007**.

- [52]: Bancirova M., Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. *Food Research International*, 43, (5),1379-1382, **2009**.
- [53]: Ni, W. W.; Suriah, A. R, Effect of Infusion on Fluoride Concentration in Various Chinese Tea. *SainsMalaysiana*, 39, (4), 581-586, **2010**.
- [54]: Czyzowska, A; Pogorzelski, E, Changes to polyphenols in the process of production of must and wines from blackcurrants and cherries. Part II. Anthocyanins and flavanols. *European Food Research and Technology* 218, (4), 355-359, **2004**.
- [55]: Fuleki, T.; Ricardo-Da-Silva, J. M., Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, (3), 640-646, **2003**.
- [56]: Marceau Perry, thèse « herboristerie : enquête sur les principales demandes a l'officine », Université de Lorraine ,**2013**.
- [57]: Cazau-beyret nelly, thèse pharmacie « prise en charge des douleurs articulaires par aromatherapie et phytotherapie », Université Toulouse III Paul Sabatier, **2013**.
- [58]: Jean-yves Chabrier, thèse doctorat en pharmacie, plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, Université Henripoincare - Nancy 1, **2010**.
- [59]: Benamor B., thèse doctorat « maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les operations d'extraction de principes actifs ; texturation par detente instantanee contrôle edic », Université de la rochelle, **2008**.
- [60]: Macleod J.L., de Troconis N.G., Volatile flavour components of mango fruit, *Phytochemistry*, 21, 2523-2526, **1982**.
- [61]: Kok M.F, Yong F.M, Lim G, Rapid extraction method for reproducible analysis or aroma volatiles, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*,35, 779-781,**1987**.
- [62]: Groubert A. Techniques d'extraction végétale: Montpellier, pharmacie, **1984**.

- [63]: Leybros J., Frémeaux P. Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, Génie des procédés, **1990**.
- [64]: Tiphaine, Hélène, Marion Mouillé-Richard, thèse doctorat « Utilisation du Chardon-Marie (*Silybummarianum*) dans les affections hépatiques chez les oiseaux et le furet : présentations de quelques cas cliniques », École nationale vétérinaire d'Alfort, **2014**.
- [65]: Daniel Morvan, les opérations unitaires « procédés industriels cours et exercices corrigés », Ellipses, daniel-morvan@enscp.fr.
- [66]: Venturini N., thèse « Contribution chimique a la definition de la qualite : exemples des spiritueux de myrte (*MyrtusCommunisL.*) et de cedrat (*citrus medical.*) de corse, Université de corse-pascal Paoli, **2012**.
- [67]: Luque de Castro M.D., Priego-Capote F., Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*,1217, 2383-2389, **2010**.
- [68]: Bimakr M., Rahman R.A., Taip F.S, Ganjloo A, Salleh L.M, Selamat J, Hamid A, ZaidulI.S.M, Comparison of different extraction method of major bioactive flavonoid compounds from spearmint (*MenthaspicataL.*) leaves, *Food and Bioproducts Processing*,89, 67- 72, **2011**.
- [69]: Luque de Castro MD., García-Ayuso LE. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *AnalyticaChimicaActa* 369:1-10, **1998**.
- [70]: Van Cuong N., thèse doctorat « Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurelle ; applications aux opérations d'extraction et de transestérification in-situ », Université de la Rochelle, **2010**.
- [71]: Cuoco G., Mathe C., Archier P., Chemat F., Vieillescazes C., A multivariate study of the performance of an ultrasound-assisted madder dyes extraction and characterization by liquid chromatography-photodiode array detection, *Ultrasonics Sonochemistry*, 16, 75-82, **2009**.

- [72]: Lee M.H., Lin C.C., Comparison of techniques for extraction of isoflavones from the root of Radix Puerariae: ultrasonic and pressurized solvent extractions, Food Chemistry, 105, 223-228, **2007**.
- [73] : Romdhane M., Extraction solide liquide sous ultrasons, INPT, thèse de doctorat, **1993**.
- [74]: Chemat F., Tomao V. et Viot M.:ultrasound-assisted extraction in food analysis. in handbook of food analysis instruments by semithötles (pp. 85 – 103). bocaraton, florida, usa : crc press, **2008**.
- [75] : Luque-García JL., Luque de Castro MD. Ultrasound-assisted Soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: Application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. Journal of Chromatography A 1034:237-242, **2004**.
- [76]: Núñez A.J., Bemelmans M.H., Maarse H., Isolation methods for the volatile components of grapefruit juice. Distillation and solvent extraction methods, Chromatographia, 18, 153-158, **1984**.
- [77]: Sinyinda S., Gramshaw J.W., Volatiles of avocado fruit, Food Chemistry, **62**, 483-487, **1998**.
- [78]: Bouseta A., Collin S., Optimized Likens-Nickerson methodology for quantifying honey flavors, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 1890-1897, **1995**.
- [79]: Bosch-Fusté J., Riu-Aumatell M., Guadayol J.M., Caixach J., López-Tamames E., Buxaderas S., Volatile profiles of sparkling wines obtained by three extraction methods and gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) analysis, Food Chemistry, 105, 428-435, **2007**.
- [80]: Braga M.E.M., Ehlert P.A.D., Ming L.C., Meireles M.A.A. Supercritical fluid extraction from Lippiaalba: global yields, kinetic data, and extract chemical composition. The Journal of Supercritical Fluids.34: 149-156, **2005**.



- [81]: Carvalho Jr. R.N., Moura L.S., Rosa P.T.V., Meireles M.A.A.. Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *The Journal of Supercritical Fluids*. Article in press], **2005**.
- [82]: Khajeh M., Yamini Y, Bahramifar N., Sefidkon F., Bahramifar N. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*. 86: 587-591, **2004**.
- [83]: Aghel N., Yamini Y., Hadjiakhoondi A., Mahdi Pourmortasavi S. Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil. *Talanta*. 62: 407-411, **2004**.
- [84]: Baysal T., Starmans D.A.J. Supercritical carbon dioxide extraction of carvone and limonene from caraway seed. *Journal of Supercritical Fluids*. 14:225-234, **1999**.
- [85]: Deng C., Yao N., Wang A., Zhang X. Determination of essential oil in a traditional Chinese medicine, *Fructus amomi* by pressurized hot water extraction followed by liquid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*. 536:237-244, **2005**.
- [86]: Ozel M.Z., Gogus F., Lewis A.C. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymus braspicata*. *Food Chemistry*. 82: 381-386, **2003**.
- [87]: Gámiz-Gracia L., Luque de Castro M.D. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*. 51:1179-1185, **2000**.
- [88]: Luque de Castro M.D., Jiménez-Carmona M.M. Conventional techniques for the isolation of valuable essential oils. *Trends Anal. Chem.* 17 : 441, **1998**.

[89] : Martini MC., Seiller M. Actifs et additifs en cosmétologie. Procédés d'extraction des huiles essentielles. Editions Tec & Doc, Editions médicales internationales. p 563, **1999**.

[90] : Arpino P., Perevot A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Ed. Masson, Paris, p. 700, **1995**.

[91]: Cakir A., Essential oil and fatty acid composition of the fruits of Hippophaerhamnoi des L. (sea buckthorn) and Myrtuscommunis L. from Turkey. Biochemical Systematics and Ecology, 32(9), 809-816, **2004**.

[92]: Tian, C., Nan, P., Chen, J. and Zhong, Y. Volatile composition of Chinese Hippophaerhamnoidesand its chemotaxonomic implications. Biochemical Systematics and Ecology, 32(4), 431-441, **2004**.

[93]: Tranchant J., Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, 4ième édition. Ed. Masson, Paris-Milan-Barcelone, p.699, **1995**.

[94]: Petko Ivanov Penchev, thèse doctorat « Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions », Institut National Polytechnique de Toulouse, **2010**.

[95]: Laure F., thèse « Etude de la composition chimique et de biodiversité du calophyllum inophyllum de Polynésie française », Nice, **2005**.

[96] : Benaissa A., thèse doctorat « Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif », Université Mentouri Constantine,**2011**.

[97]: Hernandez Ochoa L., thèse doctorat « substitution de solvants et matieres actives de synthese par un combine « solvant/actif » d'origine vegetale, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, **2005**.

[98] : Durandea., Durupthy., Editeur: Hachette, "Journal of Chemica lEducation" Chimie des couleurs et des odeurs", Association Cultures et Techniques Nantes, page 306- 309, **1996**.

[99] : Djabou N., thèse doctorat « Caractérisation et Variabilité des plantes à parfum aromatiques et Médicinales de Corse et de l'ouest Algérien », Université Abou Bekrbelkaid – Tlemcen, **2012**.

[100] : Chebil L., thèse « acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia*: études cinétique, structurale et conformationnelle », Institut National Polytechnique de Lorraine, **2006**.

[101] : Yahiaoui N., Mémoire de magister « Étude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxyapatite et charbon actif », Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou, **2012**.

[102] : Ramdani S., Soltana F., mémoire ingénieur « Détermination simultanée de l'aluminium et du fer par spectrophotométrie dérivée à l'aide de la méthode Zero-Crossing », Université A. M Bejaia, **2003**.

[103] : Meyer et Denier « spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultra-violet », Bull. Un. Phys. 784. P (895 – 908), **1996**.

[104] : Lamia Boukemara, mémoire magister « étude de l'adsorption des ions phosphate sur des oxy-hydroxydes cas de l'hydroxyde de fer, Université Mentouri de Constantine, **2009**.

[105] : J. Voyer, J. Dubard, J. Hameury, J-R. Filtz, Article « Etalonnage en transmission spectrale de filtres pour lecteur de micro-plaque Elisa, Division Optique, 29 Avenue Roger Hennequin 78197 Trappes Cedex, Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE).

[106] : Nkhili Z., thèse en co-tutelle de doctorat « Polyphénols de l'alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et pouvoir antioxydant », Université Cadi Ayyad- Faculté des sciences Semlalia – Marrakech, Université d'Avignon et des pays de Vaucluse Ecole Doctorale 306 – SPSA, Montpellier, **2009**.