

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université D^r. Tahar Moulay SAIDA

Faculté des Sciences et Technologie

Département de Génie des procédés



جامعة د الطاهر مولاي سعيدة

كلية العلوم و التكنولوجيا

قسم : هندسة الطرائق

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du diplôme Master

En Génie des procédés

Option : Génie des procédés des Matériaux

Présentés par :

HIRECHE Nassima & RAHMOUNI Kheira Amira

***Goudrons noir d'origine Sud Algérienne,
caractérisation et application***

Soutenu le : 21/06/2026

Devant le jury :

Mr. GUAZZEN Brahim

Professeur

Université de Saida

Président

Mr. GHALI Nouredine

Professeur

Université de Saida

Examineur

Mr. BENHELIMA Abdelkader

MCA

Université de Saida

Rapporteur

Promotion : 2025-2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Allah le tout-puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience nécessaire pour mener à bien ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à **Monsieur Benhelima Abdelkader** maître de conférences classe « A » au département de génie des procédés Faculté des Sciences et technologie, Université Dr. MOULAY TAHAR Saïda pour son accompagnement, ses précieux conseils et son soutien tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous adressons également nos sincères remerciements aux membres du jury, **Professeur GUAZZEN Brahim** et **Professeur Ghali Noureddine** au département de génie des procédés Faculté des Sciences et technologie, Université Dr. MOULAY TAHAR Saïda, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Aux personnels du laboratoire de l'université de Saïda Dr. MOULAY TAHAR.

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui de près ou de loin, ont contribué à la réussite de ce mémoire.

DEDICATIONS

Je dédie ce modeste travail

À mes très chers **parents**, pour leur amour
inconditionnel, leurs sacrifices, leur soutien
constant et leurs précieux conseils.

À mon cher frère, **Hireche Bolbol**, pour son
encouragement, sa présence et son affection.

À **mes chères copines**, pour leur amitié
sincère, leur soutien moral et tous les moments
de partage qui ont rendu ce chemin plus
agréable.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de
loin à ma réussite,
je présente ma profonde gratitude.

HIRECHE NASSIMA

DEDICATIONS

Je dédie ce modeste travail

À ma très chère **mère**, source d'amour, Qui
m'a toujours soutenue et qu'a été toujours
présente à mes côtés.

À mon cher père ainsi qu'à toute ma famille,
mes sœurs **Nassima** et **Nadia** pour leur amour.

A **mon mari** pour sa patience, son soutien et
ses encouragements.

À **ma belle-mère** et à toute ma **belle-famille**,
pour leur soutien et leur bienveillance.

A mon adorable neveu **Yacine**, dont le sourire
apporte joie à notre famille.

RAHMOUNI KHEIRA AMIRA

Liste des Figures

Fig. I.1 : a : Anciens fours à cade, b : Coupe longitudinale d'un four à cade.....	07
Fig. I.2 : L'arbre de <i>Juniperus thurifera</i>	08
Fig. I.3 : L'arbre de Le Pin d'Alep.....	10
Fig. I.4 : Le Pin d'Alep.....	10
Fig. II.1 : Schéma d'une colonne de chromatographie sur colonne.....	14
Fig. II.2 : Principe de la chromatographie sur couche mince (CCM).....	16
Fig. II.3 : Schéma d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	18
Fig. II.4 : Spectrophotomètre UV-Visible.....	23
Fig. II.5 : Principe de la spectroscopie UV-Visible.....	23
Fig. II.6 : Rhéomètre Brookfield RST-CPS.....	27
Fig. III.1 : Espèces <i>Juniperus thurifera</i> L. (a) et <i>Pinus halepensis</i> Mill (b).....	29
Fig. III.2 : Carte géographique de zone d'étude.....	29
Fig. III.3 : Photos montrant goudron noir des deux espèces a : <i>Juniperus thurifera</i> L., b : <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	30
Fig. III.4 : Structure chimique du radical libre DPPH.....	30
Fig. III.5 : Quelques solvants utilisés pour dissoudre les deux échantillons de Goudron.....	31
Fig. III.6 : Etapes pour préparation séparation liquide-liquide.....	32
Fig. III.7 : Etapes pour préparation de chromatographie sur colonne.....	34
Fig. IV.1 : Résultats d'activité antimicrobienne.....	36
Fig. IV.2 : Résultats d'activité antioxydante.....	38
Fig. IV.3 : Résultats de test de solubilité avec des solvants combinées.....	40
Fig. IV.4 : Image de chromatographie sur colonne.....	41
Fig. IV.5 : Résultat de CCM avec Acétate éthyle pure.....	42
Fig. IV.6 : Résultat de CCM avec DCM/AcOEt 7:3.....	42
Fig. IV.7 : Résultat de DCM pure.....	42
Fig. IV.8 : IRTF de goudron noir de <i>Juniperus thurifera</i> L.....	43
Fig. IV.9 : IRTF de goudron noir de <i>Pinus halepensis</i> Mill.....	45
Fig. IV.10 : Viscosité complexe (a), module de stockage G' (b) et module de perte G'' (c) en fonction de la fréquence angulaire pour les goudrons de bois 1 et 2, mesurés à 25 °C sur une plage de fréquences comprise entre 0,1 et 100 rad/s, avec une déformation de 1 %.....	47

Liste des tableaux

Tableau IV.1 : Résultats d'activité antimicrobienne.....	36
Tableau IV.2 : Résultats de test de solubilité.....	39

Liste des abréviations

°C :	Degré Celsius
CCM :	Chromatographie sur Couche Mince
mm :	millimètre
UV :	Ultraviolet
IR :	Infrarouge
cm :	Centimètre
FTIR :	infrarouge à transformée de Fourier
ATR :	Attenuated Total Reflection
kJ :	Kilo joule
mol :	Mole
RMN :	Résonance Magnétique Nucléaire
ppm :	Partie par million
TMS :	Tétraméthylsilane
DPPH :	2,2-diphényl -1-picrylhydrazyle
mg :	Milligramme
% :	Pourcent
mL :	Millilitre
μL :	Microlitre
ATG :	Analyse thermogravimétrique

Résumé

Ce travail porte sur l'étude et la caractérisation de deux goudrons noirs obtenus par pyrolyse traditionnelle du bois de deux arbres forestiers d'Algérie : le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera* L.) et le pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill).

Une série d'analyses physicochimiques et biologiques a été déclenchée. La séparation par chromatographie sur colonne a permis d'isoler six fractions distinctes, dont la fraction principale riche en composés phénoliques issus de la dégradation thermique de la lignine. L'analyse par spectroscopie infrarouge (FTIR) a confirmé la présence de groupements phénoliques, aromatiques, carbonylés et aliphatiques dans les deux échantillons, avec une richesse plus marquée en composés phénoliques oxygénés pour le goudron de genévrier, et une influence plus importante des résines et terpènes pour le goudron de pin. L'étude rhéologique a révélé que le goudron de pin présente une viscosité et une élasticité plus élevées, reflétant une composition en molécules plus lourdes et plus complexes. Sur le plan biologique, les deux goudrons ont démontré une activité antimicrobienne notable contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. Le goudron de genévrier s'est révélé le plus efficace, avec une zone d'inhibition de 28 mm contre *S. aureus*. Concernant l'activité antioxydante évaluée par le test DPPH, le goudron de genévrier a affiché un taux d'inhibition de 45,80 %, légèrement supérieur à celui du goudron de pin qui atteint 40,87 %.

Ces résultats valident scientifiquement leurs usages traditionnels et ouvrent la voie à des recherches futures visant à isoler les molécules actives, étudier leurs mécanismes d'action et développer de nouvelles applications thérapeutiques à partir de ces ressources naturelles locales encore sous-exploitées.

Mots-clés : Goudron noir ; *Juniperus thurifera* L. ; *Pinus halepensis* Mill. ; Pyrolyse ; Composés phénoliques ; Activité antimicrobienne ; Activité antioxydante.

Abstract :

This work focuses on the study and characterization of two black wood tars obtained by traditional pyrolysis of the wood of two Algerian forest trees: the thuriferous juniper (*Juniperus thurifera* L.) and the Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.).

A series of physicochemical and biological analyses were performed. Separation by column chromatography allowed the isolation of six distinct fractions, including the main fraction rich in phenolic compounds resulting from the thermal degradation of lignin. Analysis by multi-phase infrared spectroscopy (FTIR) confirmed the presence of phenolic, aromatic, carbonyl, and aliphatic groups in both samples, with a greater abundance of oxygenated phenolic compounds in the juniper tar and a greater influence of resins and terpenes in the pine tar. The rheological study revealed that pine tar exhibits higher viscosity and elasticity, reflecting a heavier and more complex molecular composition. Biologically, both tars demonstrated significant antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. Juniper tar proved the most effective, with an inhibition zone of 28 mm against *S. aureus*. Regarding antioxidant activity, as assessed by the DPPH assay, juniper tar showed an inhibition rate of 45.80%, slightly higher than that of pine tar, which reached 40.87%.

These results scientifically validate their traditional uses and pave the way for future research aimed at isolating active molecules, studying their mechanisms of action and developing new therapeutic applications from these still under-exploited local natural resources.

Keywords: Black tar ; *Juniperus thurifera* L. ; *Pinus halepensis* Mill. ; Pyrolysis ; Phenolic compounds ; Antimicrobial activity ; Antioxidant activity.

ملخص

يركز هذا العمل على دراسة وتوصيف نوعين من القطران الأسود المُستخلصين بالتحلل الحراري التقليدي لخشب نوعين من أشجار الغابات الجزائرية: العرعر (

Pinus halepensis Mill.) والصنوبر الحلبي (*Juniperus thurifera* L)

أُجريت سلسلة من التحليلات الفيزيائية والكيميائية والبيولوجية. سمح الفصل باستخدام كروماتوغرافيا العمود بعزل ستة أجزاء متميزة، بما في ذلك الجزء الرئيسي الغني بالمركبات الفينولية الناتجة عن التحلل الحراري للجنين. أكد التحليل وجود مجموعات فينولية وعطرية وكربونيلية وأليفاتية في FTIR باستخدام مطيافية الأشعة تحت الحمراء متعددة الأطوار كلتا العينتين، مع وفرة أكبر للمركبات الفينولية المؤكسجة في قطران العرعر، وتأثير أكبر للراتنجات والتربينات في قطران الصنوبر. كشفت الدراسة الريولوجية أن قطران الصنوبر يتميز بلزوجة ومرونة أعلى، مما يعكس تركيباً جزيئياً أثقل وأكثر تعقيداً. بيولوجياً، أظهر كلا القطران نشاطاً مضاداً للميكروبات ملحوظاً ضد الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية، والمبيضات البيضاء. وقد أثبت قطران العرعر فعالية أكبر، حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 28 ملم ضد المكورات العنقودية الذهبية. أما فيما يتعلق بالنشاط المضاد للأوكسدة كما تم تقييمه بواسطة اختبار

DPPH

، فقد أظهر قطران العرعر معدل تثبيط بلغ 45.80%، وهو أعلى قليلاً من معدل قطران الصنوبر الذي بلغ 40.87%. وتؤكد هذه النتائج علمياً استخداماتها التقليدية، وتمهد الطريق لأبحاث مستقبلية تهدف إلى عزل الجزيئات النشطة، ودراسة آليات عملها، وتطوير تطبيقات علاجية جديدة من هذه الموارد الطبيعية المحلية التي لا تزال غير مستغلة بشكل كافٍ.

الكلمات المفتاحية: القطران الأسود؛ العرعر الثوريقي؛ الصنوبر الحلبي؛ التحلل الحراري؛ المركبات الفينولية؛ النشاط المضاد للميكروبات؛ النشاط المضاد للأوكسدة.

Sommaire

Liste des Figures.....	I
Liste des Tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction.....	01
Références bibliographiques.....	03

Chapitre I : Les Goudrons végétaux

I.1 Définitions des goudrons	04
I.2 Les Goudrons végétaux.....	04
I.2.1 Le goudron de pin ou goudron de Norvège (pine tar).....	04
I.2.2 Le goudron d'hêtre.....	05
I.2.3 L'huile de bouleau.....	05
I.2.4 L'huile de cèdre.....	05
I.2.5 L'huile de cade.....	05
I.3 Les Goudrons de Cade.....	06
I.3.1. Le genre <i>Juniperus</i>	06
I.3.2 Production du goudron de cade.....	06
I.4 Les fours.....	06
I.4 Espaces utilisées pour la production d'huile de cade.....	07
I.4.1 Le Cadier <i>Juniperus oxycedrus</i>	07
I.4.2 Le Genévrier thurifère (<i>Juniperus thurifera</i>).....	07
I.5 Généralités sur le Pin.....	08
I.5.1 Principales espèces de <i>Pinus</i> en Algérie.....	09
I.5.1.1. <i>Pinus halepensis</i> (Pin d'Alep).....	09
I.5.1.2. <i>Pinus pinaster</i> (Pin maritime).....	09
I.5.1.3. <i>Pinus nigra</i> (Pin noir).....	09
I.5.1.4. Espèces introduites ou expérimentales.....	09
I.5.2 Le Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i>).....	09
I.6 Taxonomie.....	10
Références bibliographiques.....	12

Chapitre II : Les techniques d'analyse

II.1. Chromatographie sur colonne	14
II.1.1	14
Définition.....	
II.1.2 Principe de séparation.....	14
II.1.3 Composition de la colonne chromatographique.....	15
II.1.3.1 Support (colonne).....	15
II.1.3.2 Phase stationnaire.....	15
II.1.3.3 Phase mobile.....	15
II.1.3.4 Système de support.....	15
II.1.4 Étapes de la chromatographie sur colonne.....	15

II.1.4.1 Préparation de la colonne.....	15
II.1.4.2 Dépôt d'échantillon.....	15
II.1.4.3 Éluion.....	15
II.1.4.4 Collecte des fractions.....	16
II.1.5. Types de chromatographie sur colonne.....	16
II.1.5.1 Chromatographie d'adsorption.....	16
II.1.5.2 Chromatographie de partage.....	16
II.1.5.3 Chromatographie échangeuse d'ions.....	16
II.1.5.4 Chromatographie d'exclusion stérique.....	16
II.1.6 Applications.....	16
II.2 Chromatographie sur Couche Mince (CCM).....	16
II.2.1 Définition.....	16
II.2.2 Principe de la CCM.....	17
II.2.3 La plaque de CCM.....	17
II.2.3.1 Définition.....	17
II.2.3.2 Composition de la plaque.....	17
II.2.3.3 Caractéristiques.....	17
II.2.4 Étapes de la CCM.....	17
II.2.4.1 Dépôt de l'échantillon.....	17
II.2.4.2 Développement.....	17
II.2.4.3 Séparation.....	18
II.2.4.4 Révélation.....	18
II.2.5 Facteur de rétention (Rf).....	18
II.2.6 Applications.....	18
II.3 Spectroscopie Infrarouge (IR).....	18
II.3.1 Définition.....	18
II.3.2 Le rayonnement infrarouge.....	19
II.3.3 Principe.....	19
II.3.4 Instrumentation	20
II.3.5 Modes de vibration (Spectroscopie infrarouge).....	20
II.3.6 Types fondamentaux de vibrations moléculaires.....	20
II.3.6.1 Vibrations de valence (stretching).....	20
II.3.6.2 Vibrations de déformation (bending).....	20
II.3.7 Préparation de l'échantillon en spectroscopie infrarouge (IR).....	21
II.3.7.1 Échantillons solides.....	21
II.3.7.1.1 Méthode de la pastille de KBr.....	21
II.3.7.1.2 Technique de suspension (mull).....	21
II.3.7.1.3 Réflexion totale atténuée (ATR).....	22
II. 3.7.2 Échantillons liquides.....	22
II.4 Spectroscopie UV-Visible (UV-Vis).....	22
II.4.1 Principe.....	23
II.4.2 Domaine spectral.....	23
II.4.3 Les principales transitions observables en spectrométrie UV-Visible.....	24
II.4.3.1 Transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$	24
II.4.3.2 Transitions $n \rightarrow \sigma^*$	24
II.4.3.3 Transitions $n \rightarrow \pi^*$	24
II.4.3.4 Transitions $\pi \rightarrow \pi^*$	24
II.4.3.5 Transition $d \rightarrow d$	24
II.4.4 Loi de Beer-Lambert.....	24
II.4.5 Instrumentation UV-Visible.....	25

II.4.5.1 Source lumineuse.....	25
II.4.5.2 Système de sélection de longueur d'onde.....	25
II.4.5.3 Compartiment échantillon.....	25
II.4.5.4 Détecteur.....	25
II.4.6 Préparation de l'échantillon en UV-Visible.....	25
II.4.6.1 Préparation des solutions.....	25
II.4.6.2 Choix du solvant.....	26
II.4.6.3 Cuves d'analyse.....	26
II.4.6.4 Précautions expérimentales.....	26
II.5 Analyse Rhéologique.....	26
II.5.1 Définition.....	26
II.5.2 Principe.....	26
II.5.3 Fondements Théoriques.....	27
Références bibliographiques.....	28

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1. Objectif.....	29
III.2 Matériel végétal.....	29
III.3 Choix de station.....	29
III.4 Pyrolyse (Matériel végétal).....	30
III.5 Application et activité.....	30
III.5.1 Activité anti-radicalaire (méthode DPPH).....	30
III.5.1.1 Protocole expérimental.....	30
III.5.2 Activité antimicrobienne.....	31
III.6 Caractérisation des goudrons noir.....	31
III.6.1 Test de solubilité.....	31
III.6.2 Procédure de séparation liquide-liquide (phase aqueuse et organique).....	32
III.6.3 Chromatographie couche mince (CCM).....	34
III.6.3.1 Principe.....	34
III.6.3.2 Protocole.....	34
III.6.4 Chromatographie sur colonne.....	34
III.6.5 Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)	35
III.7 Méthodologie Expérimentale d'Analyse Rhéologique.....	35
III.7.1 Protocoles Expérimentaux.....	35
Références bibliographiques.....	36

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1. Introduction	36
IV.2 Activité antimicrobienne des Goudrons noirs.....	36
IV.3 Activité antiradicalaire des Goudrons noirs.....	38
IV.4 Test de solubilité du goudron noir.....	40
IV.4.1 Solvants polaires.....	41
IV.4.2 Solvants apolaires.....	41
IV.5 la chromatographie sur colonne.....	42
IV.5.1 Observations macroscopiques.....	42
IV.6 chromatographies sur couche mince (CCM).....	43

IV.7 Caractérisation des goudrons noir.....	44
IV.7.1 Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	44
IV.7.2 Analyse Rhéologique des goudrons noir.....	47
Références bibliographique.....	51
Conclusion générale.....	55

Introduction
Générale

Introduction générale

L'extraction du goudron végétal est une pratique très ancienne en Afrique du Nord et dans le Sahara, transmise de génération en génération sans que l'on puisse en fixer précisément l'origine. Elle repose sur des méthodes traditionnelles simples, consistant à chauffer le bois en absence d'air (distillation sèche), afin d'obtenir une substance noire, visqueuse et fortement odorante [1, 2].

Selon les régions et les cultures, le goudron porte différentes appellations. Chez les Touaregs, le terme « Kedrân » est souvent utilisé pour désigner le goudron d'origine minérale. Dans les milieux arabophones, les mots « El-qatrân » ou « El-gedrân » peuvent désigner aussi bien le goudron végétal que minéral. On trouve également le terme « El-godron », influencé par le français « goudron ». Dans certaines régions berbérophones, une appellation spécifique comme « berkânda » est employée, témoignant de la richesse linguistique et culturelle autour de ce produit [1].

En Algérie et plus largement au Maghreb, le goudron occupe une place importante dans les pratiques traditionnelles. Il est utilisé pour ses propriétés thérapeutiques, notamment comme antiseptique, antifongique et antiparasitaire, ainsi que dans le domaine vétérinaire [3, 4]. Il intervient également dans certaines pratiques culturelles et rituelles. Malgré cet usage ancestral, la composition chimique de ces goudrons reste encore partiellement méconnue, et leur valorisation scientifique demeure insuffisante au regard de leur potentiel biologique [4].

Le goudron végétal est obtenu à partir de la distillation de différentes essences locales telles que le genévrier, le pin d'Alep, le cèdre ou encore le tamaris [5]. La nature de ces matières premières influence directement la qualité et la composition du produit final. Ainsi, le goudron végétal ne se limite pas à un simple produit utilitaire ; il constitue un élément du patrimoine culturel, associant savoir-faire traditionnel, usages médicaux et pratiques sociales [1].

Le procédé d'extraction traditionnel repose sur l'utilisation de fours artisanaux. Le bois est soumis à une pyrolyse lente en absence d'oxygène, provoquant la décomposition thermique des constituants lignocellulosiques et la formation de goudron, de gaz et de charbon [6-8]. La température appliquée ainsi que la durée de chauffage influencent fortement le rendement et la composition chimique du goudron obtenu [6].

Cependant, une question importante se pose : les différents types de goudron produits dans ces régions présentent-ils les mêmes caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ? En réalité, plusieurs facteurs influencent la qualité et la composition du produit final. Parmi eux, on peut citer la nature de la matière première (espèce végétale utilisée), les conditions climatiques, la technique de distillation (température, durée, type de four) ainsi

que les méthodes de stockage [6, 8]. Ces variations peuvent entraîner des différences notables dans la composition chimique (teneur en phénols, hydrocarbures et composés aromatiques) et dans les propriétés biologiques, notamment l'activité antimicrobienne et antioxydante [4, 9].

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail, dont l'objectif principal est d'étudier et de caractériser les goudrons noirs issus de la pyrolyse de *Juniperus thurifera* et de *Pinus halepensis* ; deux essences forestières emblématiques des écosystèmes méditerranéens et largement présentes dans l'Ouest Algérien [5, 10]. Pour ce faire, différentes méthodes analytiques ont été mises en œuvre : chromatographie sur couche mince (CCM), chromatographie sur colonne, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), spectroscopie UV-Visible, analyse thermogravimétrique (ATG-DSC) et spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN ^1H et ^{13}C). Les activités biologiques, notamment l'activité anti-radicalaire (DPPH) et l'activité antimicrobienne, ont également été évaluées [9, 11].

Ce mémoire est organisé en quatre chapitres. Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique sur les goudrons végétaux, les espèces utilisées ainsi que leur contexte botanique et écologique. Le deuxième chapitre décrit les principales techniques d'analyse et méthodes de caractérisation employées dans ce travail. Le troisième chapitre expose le matériel végétal utilisé, la station d'étude choisie ainsi que les méthodes expérimentales adoptées pour la pyrolyse et les différentes analyses. Enfin, le quatrième chapitre est consacré à la présentation et à la discussion des résultats obtenus, avant de conclure par une synthèse générale des apports et des perspectives de ce travail.

Références bibliographiques

- [1]. Hmamouchi, M. (1999). *Les plantes médicinales et aromatiques marocaines*. Rabat : Éditions Fedala.
- [2]. Bruneton, J. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. 4^{ème} éd. Paris: Lavoisier.
- [3]. Cioni, P. L., Flamini, G., Morelli, I., Maccioni, S., Ansaldi M. (2003). Chemical composition of essential oils from needles, branches and cones of *Pinus pinea*, *P. halepensis*, *P. pinaster* and *P. nigra* from central Italy. *Flavour Fragr. J.*, 18: 139-143
- [4]. Belkacem, B., Sidali, B. (2023). *Caractérisation physico-chimique de distillat obtenu à partir d'huile de cade*. Mémoire de Master. Université de Ghardaïa.
- [5]. Quézel, P., Médail, F. (2003). *Écologie et biogéographie des forêts du bassin méditerranéen*. Paris: Elsevier.
- [6]. Statheropoulos, M., Liodakis, S., Tzamtzis, N., Pappa, A., Kyriakou. S. (1997). Thermal degradation of *Pinus halepensis* pine-needles using various analytical methods. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 43(2), 115–123.
- [7]. Pappa, A., Tzamtzis, N.E., Statheropoulos, M.K., Liodakis, S.E., Parissakis. G.K. (1995). A comparative study of the effects of fire retardants on the pyrolysis of cellulose and *Pinus halepensis*. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 31, 85–100.
- [8]. Mohan, D., Pittman, C.U., Steele, P.H. (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: A critical review. *Energy & Fuels*, 20, 848–889.
- [9]. Nadia, F., Hocine, A., Salima, M., Faïza, C., Djamila, M., Mohamed, El A., Nassim, D., Alain, M., Boufeldja, T., Jean, C. (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Pinus halepensis* Miller growing in West Northern of Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4(2), 97–103.
- [10]. Dob, T. Tayeb, B., Chaabane, C. (2005). Chemical composition of essential oil of *Pinus halepensis* Miller growing in Algeria. *Comptes Rendus Chimie*, 8(11), 1939–1945.
- [11]. Oucif, I. (2025). Valorisation des extraits actifs de *Juniperus oxycedrus* pour des applications en santé et en agroalimentaire. Mémoire de Master, Université Constantine 1.

Chapitre I:
Les Goudrons
végétaux

I.1 Définitions des goudrons

Les goudrons se définissent par leur mode d'obtention. En effet, ils sont produits à partir de combustibles portés à haute température. Il existe plusieurs types de combustibles tels que les végétaux (pin, hêtre, bouleau, cèdre et cade), la houille ou le schiste (origine pétrolifère). Ces différents combustibles donnent des goudrons de nature différente [1]. On peut les classer plus précisément en 3 groupes :

- ❖ Les goudrons de bois (goudron de pin, goudron de hêtre, huile de bouleau, huile de cade, huile de cade) ;
- ❖ Les goudrons fossilifères (goudrons de houille) ;
- ❖ Les goudrons sédimentaires (origine schisteuse, origine pétrolifère) [2].

Lorsque les combustibles sont portés à une température importante, différents gaz sont produits et un liquide sombre et insoluble dans l'eau s'écoule, c'est le goudron. Les goudrons ont pour caractéristiques une couleur brune, une densité importante une forte odeur aromatique et une viscosité plus ou moins importante. Ils diffèrent par leurs compositions, leurs procédés d'obtention et leurs degrés de pureté [1].

On peut noter tout de même des composés communs. Ainsi, les goudrons réunissent la plupart des espèces moléculaires fondamentales tels que des acides, des phénols, des hydrocarbures paraffiniques ou aromatiques [3].

I.2 Les Goudrons végétaux

Les Goudrons végétaux se distinguent en plusieurs types tels que :

I.2.1 Le goudron de pin ou goudron de Norvège (pine tar)

Le goudron de pin est obtenu par distillation sèche de bois résineux. C'est une distillation per descenseur. Pour la réalisation de celle-ci, racines, troncs et copeaux de pins sont utilisés.

On distingue le goudron de Norvège utilisé en pharmacie, du goudron des Landes. Le goudron de Norvège est obtenu à partir de deux espèces de pins : *Pinus sylvestris* et *Pinus ledebourii* alors que le goudron des Landes est obtenu à partir de *Pinus maritima* [1].

Le goudron de pin a eu, au cours des siècles, de multiples applications. La première utilisation du goudron de pin fut l'enduit et le calfeutrage des coques de bateaux. Il est ensuite remarqué pour ces propriétés cicatrisantes ce qui amène à l'employer contre les démangeaisons et la gale [4].

Sous forme d'eau de goudron, il est ensuite indiqué dans le traitement des bronchites chroniques car il permet de fluidifier les sécrétions bronchiques. Il est également préconisé par

extension contre la tuberculose pulmonaire. Il existe d'ailleurs des médicaments vétérinaires à base de goudron de pin présentant des indications très variées. Ainsi, Réducine Absorbent est une pâte externe destinée aux douleurs, engorgements des membres ainsi qu'aux « boiteries » des chevaux, juments et poulains. Vet Onguent Noir Biototal et Argiletz Horse Onguent de Pieds sont d'autres produits destinés à la cicatrisation des cornes et des sabots de pied des chevaux [1].

I.2.2 Le goudron d'hêtre

Obtenu à partir du hêtre, *Fagus sylvatica*, il est aussi appelé « beech tar ». Sa composition est très différente de celle des goudrons résineux. Le goudron de hêtre pourrait permettre de modifier une partie de la parakératose (phénomène important chez les personnes atteintes de psoriasis) en orthokératose (augmentation de l'orthokératose jusqu'à 19%) et de diminuer l'afflux de sang au niveau des lésions psoriasiques [5, 6].

I.2.3 L'huile de bouleau

Le bouleau appartient à la famille des Bétulacées (ordre des Fagales) et au genre *Betula*. Ce dernier comporte à travers le monde une quarantaine d'espèces. Trois sont présentes en France : *Betula verrucosa*, *Betula nana* et *Betula pubescens*. L'huile de bouleau, également dénommée essence blanche ou « birch tar oil », est produite à partir des espèces *Betula verrucosa* et *Betula pubescens* par distillation à la vapeur d'eau [7].

Autrefois, l'huile de bouleau était utilisée non seulement dans le traitement des cuirs mais également en médecine, dans des préparations destinées au traitement de maladies de peau telles que l'eczéma et le psoriasis. Ces préparations étaient appliquées essentiellement sur le cuir chevelu. L'un de ses intérêts résidait dans le fait qu'elle masquait l'odeur d'autres constituants [8].

I.2.4 L'huile de cèdre

Le genre *Cedrus* regroupant les cèdres appartient au groupe des conifères. Il fait partie de la famille des Pinacées (pins) et de la sous-famille des Abiétacées (sapins). Il existe quatre espèces de cèdre dont le cèdre du Liban (*Cedrus libani*), le cèdre de l'Himalaya (*Cedrus deodora*), le cèdre de Chypre (*Cedrus brevifolia*) et enfin le cèdre de l'Atlas (*Cedrus atlantica*). C'est ce dernier que l'on retrouve dans le bassin méditerranéen. Le goudron de cèdre est obtenu à partir du cèdre de l'Atlas. L'huile de cèdre, et elle, extraite du goudron. De par son odeur moins prononcée, elle est souvent utilisée à la place de l'huile de cade [9].

I.2.5 L'huile de cade

L'huile de cade appelé également "Gatran" est obtenue par carbonisation du tronc et des grosses branches des vieux cadriers, les jeunes ne donnant pas d'huile. Il faut distinguer l'huile

de cade vraie, de l'huile de cade dite vétérinaire qui se forme au cours de la préparation du goudron de pin (liquide noirâtre surnageant) [1].

L'huile de cade n'est pas le seul produit que l'on peut tirer du cadier. Il existe des dérivés de l'huile empyreumatique. Ce sont des produits obtenus par différents procédés.

Tout d'abord, le distillat moléculaire est récupéré en pulvérisant l'huile de cade vraie sur un corps chauffé à 80°C dans une enceinte soumise à une basse pression de l'ordre de $3 \cdot 10^{-4}$ bar [10]. L'huile essentielle de cade, quant à elle, provient de l'entraînement à la vapeur d'eau de l'huile de cade vraie. Elle renferme des éléments phénoliques de l'huile de cade vraie [11].

I.3 Les Goudrons de Cade

I.3.1. Le genre *Juniperus*

L'origine étymologique du nom *Juniperus* est mal connue. En effet, *Juniperus* dériverait des mots celtes gens, qui désigne un petit buisson et Prus signifiant âpre. Selon une deuxième hypothèse, *Juniperus* viendrait du latin junior qui veut dire jeune et parère qui signifie enfanter. En effet, certains genévriers étaient employés autrefois pour faciliter les contractions utérines [7]

Les genévriers sont des résineux méditerranéens non cultivés. Ils appartiennent à la famille des Cupressacées. Ce sont, d'ailleurs, les seuls représentants spontanés de cette famille. Les genévriers se trouvent dans les régions méridionales de l'Europe, du nord de l'Afrique et même en Iran. Présents en Corse et dans le midi de la France, ils sont très souvent associés aux forêts de chênes verts, aux garrigues et aux maquis [10, 12, 13, 14].

I.3.2 Production du goudron de cade

Comme on l'a vu précédemment, il faut distinguer l'huile de cade vraie, d'huile de cade dite vétérinaire qui se forme au cours de la préparation du goudron de pin (liquide noirâtre surnageant) [1].

I.4 Les fours

Autrefois, les fours étaient des constructions massives faites de pierres sèches et recouvertes de terre, ils ont été utilisés jusqu'au milieu du XX^{ème} siècle. L'intérieur du four était constitué d'une grande fosse centrale d'environ deux mètres de profondeur sur un mètre de diamètre. Cette fosse était faite de briques et d'argile. Son fond avait une forme particulière d'entonnoir permettant de récupérer l'huile de cade (figure I.1). En arrière de cette fosse, se trouvait la chambre de chauffe. C'est dans celle-ci que l'on allumait un feu afin d'avoir un chauffage maximal d'environ 250°C, cette température permettant une exsudation d'huile sans que celle-ci ne s'évapore ni ne s'enflamme [15].

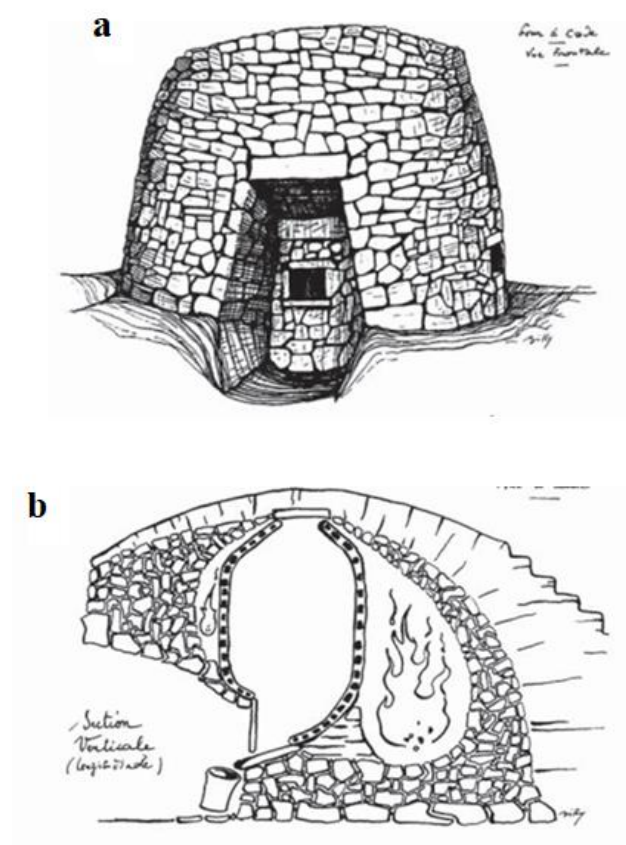


Fig. I.1 : a : Anciens fours à cade, b : Coupe longitudinale d'un four à cade [13]

I.4 Espaces utilisées pour la production d'huile de cade

Il existe plusieurs espèces pour la production d'huile de cade, que l'on citera ci-après :

I.4.1 Le Cadier *Juniperus oxycedrus*

L'origine étymologique du nom *Juniperus* est mal connue. En effet, *Juniperus* dériverait des mots celtes *gen*, qui désigne un petit buisson et *prus* signifiant âpre. Selon une deuxième hypothèse, *Juniperus* viendrait du latin *junior* qui veut dire jeune et *parere* qui signifie enfanter. En effet, certains genévriers étaient employés autrefois pour faciliter les contractions utérines [10].

Les genévriers sont des résineux méditerranéens non cultivés. Ils appartiennent à la famille des Cupressacées. Ce sont, d'ailleurs, les seuls représentants spontanés de cette famille. Les genévriers se trouvent dans les régions méridionales de l'Europe, du nord d'Afrique et même en Iran. Présents en Corse et dans le midi de la France, ils sont très souvent associés aux forêts de chênes verts, aux garrigues et aux maquis [11]. Le genre *Juniperus* regroupe environ une cinquantaine d'espèces dans le monde.

1.4.2 Le Genévrier thurifère (*Juniperus thurifera*)

Le genévrier thurifère (*Juniperus thurifera*) (figure I.2) est un conifère de la famille des Cupressaceae, caractéristique des régions méditerranéennes occidentales et des zones montagneuses semi-arides. Cet arbre peut atteindre une hauteur de 6 à 12 mètres et se distingue par son tronc souvent tortueux, son écorce fibreuse de couleur brun-gris et son feuillage persistant composé de feuilles écailleuses. Il est particulièrement adapté aux conditions climatiques rigoureuses, notamment la sécheresse, les vents forts et les sols pauvres, ce qui explique sa présence dans les hauts plateaux et l'Atlas saharien en Algérie [10, 16]

Du point de vue écologique, *Juniperus thurifera* joue un rôle important dans la stabilisation des sols et la lutte contre la désertification. Il contribue également à la biodiversité en offrant un habitat à de nombreuses espèces animales et végétales. Sa croissance lente et sa longévité élevée en font une espèce fragile face à la surexploitation [19]. Sur le plan chimique, le bois du genévrier thurifère est riche en composés aromatiques, notamment des terpènes, des phénols et des huiles essentielles. Ces substances sont à l'origine de ses propriétés antiseptiques, antifongiques et insecticides. Lors de la distillation sèche, le bois produit un goudron appelé communément « huile de cade », utilisé traditionnellement en médecine humaine et vétérinaire pour traiter les affections cutanées [17, 18].



Fig. I.2 : L'arbre de *Juniperus thurifera*.

Traditionnellement, dans le sud et les zones steppiques d'Algérie, le bois de *Juniperus thurifera* est utilisé dans des fours artisanaux pour produire du goudron. Cette pratique ancestrale constitue une source de revenus pour les populations locales, bien qu'elle nécessite aujourd'hui une régulation pour éviter la dégradation des peuplements naturels.

I.5 Généralités sur le Pin

Le genre *Pinus* appartient à la famille des Pinaceae et constitue l'un des groupes de conifères les plus importants en Algérie. Les espèces de pin occupent principalement le nord du pays, en particulier les zones montagneuses et sub-humides à semi-arides. Elles jouent un

rôle écologique majeur dans la stabilisation des sols, la lutte contre l'érosion et la restauration des écosystèmes forestiers dégradés [19, 20]. Les forêts de pins en Algérie sont dominées par une espèce principale largement répandue, accompagnée de quelques espèces secondaires localisées dans des conditions écologiques spécifiques. Grâce à leur forte capacité d'adaptation aux conditions climatiques difficiles, les pins constituent des éléments essentiels des programmes de reboisement et de lutte contre la désertification [20].

I.5.1 Principales espèces de *Pinus* en Algérie

I.5.1.1. *Pinus halepensis* (Pin d'Alep)

Le pin d'Alep est l'espèce la plus répandue en Algérie. Il occupe de vastes superficies dans les régions méditerranéennes, depuis les zones côtières jusqu'aux plateaux intérieurs. Il est très résistant à la sécheresse et aux incendies, ce qui lui permet de coloniser des sols pauvres et dégradés [20].

I.5.1.2. *Pinus pinaster* (Pin maritime)

Le pin maritime est présent de manière plus localisée, principalement dans certaines zones côtières et humides. Il est utilisé pour la fixation des sols sableux, la production de bois et l'exploitation de la résine [21].

I.5.1.3. *Pinus nigra* (Pin noir)

Cette espèce est moins fréquente et se rencontre surtout dans les régions montagneuses. Elle est utilisée dans les programmes de reboisement en altitude en raison de sa bonne adaptation aux climats froids.

I.5.1.4. Espèces introduites ou expérimentales

Certaines espèces de *Pinus* comme *Pinus canariensis* ont été introduites à titre expérimental dans des programmes forestiers, mais elles restent limitées en distribution et ne constituent pas des peuplements naturels importants [22].

I.5.2 Le Pin d'Alep (*Pinus halepensis*)

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) est un conifère appartenant à la famille des Pinaceae, largement répandu dans le bassin méditerranéen. Il peut atteindre une hauteur de 10 à 20 mètres (figure I.3) et se caractérise par un tronc droit, une écorce fissurée et des aiguilles fines regroupées par deux. Cette espèce est particulièrement résistante à la sécheresse et aux incendies, ce qui lui permet de coloniser des milieux dégradés et des sols pauvres [16, 4]. En Algérie, le pin d'Alep constitue l'une des essences forestières les plus importantes, occupant de vastes superficies dans le nord du pays. Il joue un rôle essentiel dans la protection des sols contre l'érosion et dans la régulation du climat local. De plus, il représente une ressource économique importante grâce à l'exploitation de son bois et de sa résine [23].



Fig. I.3 : L'arbre de Le Pin d'Alep

Le bois et la résine de *Pinus halepensis* contiennent une grande quantité de composés organiques, notamment des terpènes et des acides résiniques. Lorsqu'il est soumis à la pyrolyse, ce bois produit un goudron riche en substances antiseptiques et hydrophobes, utilisé pour la protection du bois, le traitement des maladies animales et certaines applications industrielles [24].

La production de goudron à partir du pin d'Alep (figure I.4) est moins fréquente que celle du genévrier, mais elle reste pratiquée dans certaines régions rurales. Le procédé est similaire, basé sur la distillation sèche du bois, et permet d'obtenir un produit aux propriétés proches de celles du goudron de genévrier, bien que sa composition chimique soit légèrement différente [26].



Fig. I.4 : Le Pin d'Alep

I.6 Taxonomie

- La taxonomie de *Juniperus thurifera* est configurée comme suivant :

Embranchement :	Tracheophyta (Plantes vasculaires)
Sous-Embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Pinopsida (Gymnospermes)
Ordre :	Pinales
Famille :	Cupressaceae
Floraison :	Pas de fleurs véritables (Gymnosperme)
Pollinisation :	Anémophile
Dissémination :	Zoochore (oiseaux) + gravité (chute des graines)
Genre :	<i>Juniperus</i>
Espèce :	<i>Juniperus thurifera</i> L
Nom commun :	Genévrier thurifère
Nom vernaculaire :	Arâr (الأرعار) / Genévrier

- La taxonomie de Pin d'Alep est configurée comme suivant :

Embranchement :	Tracheophyta (Plantes vasculaires)
Sous-Embranchement :	Gymnospermes
Classe :	Pinopsida (Gymnospermes)
Ordre :	Pinales
Famille :	Pinaceae
Floraison :	Absente
Pollinisation :	Anémophile (vent)
Dissémination :	Anémocorie (graines dispersées par le vent grâce aux ailes)
Genre :	<i>Pinus</i>
Espèce :	<i>Pinus halepensis</i> Mill
Nom commun :	Pin d'Alep
Nom vernaculaire :	Sanawbar halabi (الصنوبر الحلبي)

Références bibliographiques

- [1]. DORVAULT, F. L'officine Vigot Ed, 23^{ème} Ed, 1994, Evreux.
- [2]. LORETTE, G., VAILLANT, L. Traitements locaux en dermatologie Coll. Dermatologie pratique, 1995, 174-178.
- [3]. PIPET, C. Contribution à l'étude des goudrons utilisés en dermatologie et en cosmétologie. Thèse, Doctorat Pharmacie, 1986, Paris.
- [4]. GALL, Y., LITOUX, P. Les goudrons en pratique dermatologique. Bulletin d'esthétique Dermatologique et Cosmétologique, 1989, 48, 25-35.
- [5]. BOSMAN, B., MATTHIESEN, T., HESS, V., FRIDERICH, E. A quantitative method for measuring antipsoriatic activity of drugs by the mouse tail test. Skin pharmacology, 1992, 5, 41-8.
- [6]. STABERG, B., KLEMP, P. Skin blood flow in psoriasis during Goeckerman or beech tar therapy. Acta. Derme. Venereol. 1984, 64, 331-64
- [7]. ROUSSILLAT, M. Le bouleau. Ed Actes sud, 1995, 11-81
- [8]. TOTH J. Le cèdre de France. Ed L'Harmattan, 2005, 7-31
- [9]. BERTAUDIERE-MONTES, V., MONTES N. Le genévrier. Ed Actes Sud, 2004, 12-71
- [10]. ADAMS, R.P. *Junipers of the World* 4th Edition. 2014.
- [11]. LUCAS, E. Un produit d'avenir en thérapeutique dermatologique : le distillat moléculaire de cade. Thèse, Doctorat Pharmacie, 2000, Montpellier.
- [12]. REYNAUD, J. La flore du pharmacien. Ed Tec et doc, 2002, 115.
- [13]. CHUYEN, C. Sur la composition des essences de genévrier commun de l'oxycèdre et du goudron de cade. Thèse Doctorat Pharmacie, 1985, Marseille.
- [14] VIDAL. Dictionnaire. Edition 82, 2006, Issy-les-Moulineaux.
- [15]. PORTE, L. Fours à cade, fours à poix dans la Provence littorale. Ed Les Alpes de Lumière, 1994, 3-26.
- [16]. Quézel, P., Médail, F. (2003). *Ecology of Mediterranean Ecosystems*.
- [17]. Bruneton, J. (1999). *Pharmacognosie*
- [18]. Hammiche, V. Khadra, M. (2006). Traditional medicine in Central Sahara: pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. J Ethnopharmacol. 24;105(3):358-67.
- [19]. Médail, F., Quézel, P. (1999). *Biodiversity hotspots in the Mediterranean Basin*. Annals of the Missouri Botanical Garden.
- [20]. Bouzid, N. (2025). Provenance variability in cone, seed and wing characteristics of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) from Djelfa, Algeria. *Discover Forests*. 1(7).

- [21]. Quézel, P., Médail, F. (2003). *Ecology and biogeography of Mediterranean pines*. Elsevier.
- [22]. Evangelia, V.A., Ermioni, M., Evangelia, K., George, M., Konstantinos, K. (2025). Genetic and Epigenetic Diversity of *Pinus pinea* L.: Conservation Implications for Priority Populations in Greece. *Genes*, 16(4), 361
- [23]. M'Hirit, O. (1999). Le pin d'Alep au Maghreb.
- [24]. FAO. (1995). Produits forestiers et chimie du bois.

Chapitre II:
Les techniques
d'analyses

II.1 Chromatographie sur colonne

II.1.1 Définition

La chromatographie sur colonne (figure II.1) est une technique de séparation physico-chimique largement utilisée en chimie analytique et en phytochimie. Elle repose sur la distribution différentielle des constituants d'un mélange entre une phase stationnaire solide et une phase mobile liquide [1].

Cette technique permet d'isoler, purifier et analyser les composés organiques présents dans des extraits complexes, notamment les extraits végétaux [2].

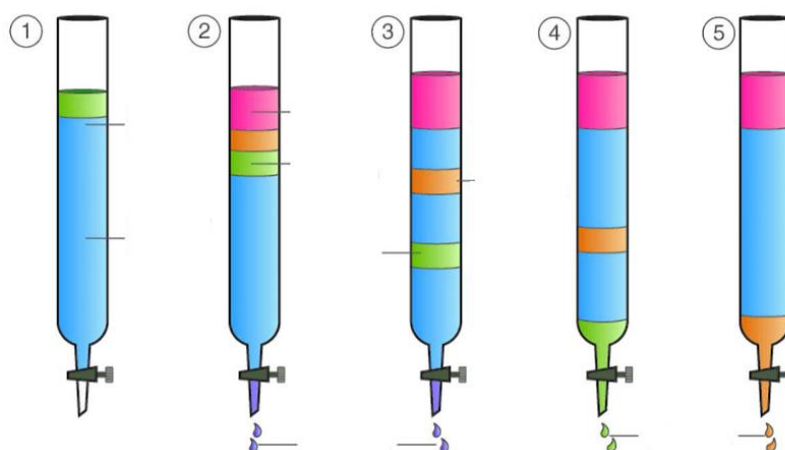


Fig. II.1 : Chromatographie sur colonne

II.1.2 Principe de séparation

Le principe de la chromatographie sur colonne est basé sur les interactions entre :

- ❖ Les molécules du mélange;
- ❖ La phase stationnaire (adsorption);
- ❖ La phase mobile (élution).

Les composés sont séparés selon :

- ❖ Leur polarité;
- ❖ Leur taille moléculaire;
- ❖ Leur affinité chimique.

Les molécules les moins retenues par la phase stationnaire migrent plus rapidement, tandis que celles ayant une forte interaction sont retenues plus longtemps [3]. Ce phénomène est appelé migration différentielle.

II.1.3 Composition de la colonne chromatographique

II.1.3.1 Support (colonne)

La colonne est généralement un tube cylindrique en verre, permettant la séparation des constituants du mélange. Sa taille dépend de la quantité d'échantillon à analyser [4].

II.1.3.2 Phase stationnaire

La phase stationnaire est un solide adsorbant :

- ❖ **Silice (SiO_2)** → la plus utilisée (polaire)
- ❖ **Alumine (Al_2O_3)**
- ❖ **Gels polymériques (Sephadex)**

Elle joue un rôle essentiel dans la séparation des composés en fonction de leur polarité [2].

II.1.3.3 Phase mobile

La phase mobile est un liquide (solvant ou mélange de solvants) qui traverse la colonne, elle peut être :

- ❖ **Apolaire** (Ex : hexane),
- ❖ **Polaire** (Ex : méthanol, éthanol).

Le choix du solvant influence directement l'efficacité de la séparation [5].

II.1.3.4 Système de support

- ❖ **Coton ou laine de verre en bas,**
- ❖ **Sable pour stabiliser la surface.**

II.1.4 Étapes de la chromatographie sur colonne

II.1.4.1 Préparation de la colonne

La phase stationnaire est introduite dans la colonne sous forme de suspension dans un solvant (méthode humide) afin d'éviter la formation de bulles d'air [1].

II.1.4.2 Dépôt d'échantillon

L'échantillon à analyser est déposé délicatement à la surface de la colonne pour éviter le mélange avec la phase stationnaire [3].

II.1.4.3 Éluion

La phase mobile est ajoutée en continu. Les composés migrent à différentes vitesses selon leur interaction avec la phase stationnaire [4].

II.1.4.4 Collecte des fractions

Les composés séparés sont récupérés dans différents tubes appelés **fractions** [2].

II.1.5. Types de chromatographie sur colonne

II.1.5.1 Chromatographie d'adsorption

Basée sur les interactions entre solide et liquide. Exemple : silice / composés organiques [5].

II.1.5.2 Chromatographie de partage

Basée sur la solubilité des composés entre deux phases liquides [1].

II.1.5.3 Chromatographie échangeuse d'ions

Sépare les molécules selon leur charge électrique [3].

II.1.5.4 Chromatographie d'exclusion stérique

Sépare selon la taille des molécules (macromolécules) [2].

II.1.6 Applications

La chromatographie sur colonne est utilisée dans :

- ❖ La séparation des composés organiques [1],
- ❖ L'analyse des extraits végétaux [2],
- ❖ La purification des huiles essentielles [4],
- ❖ La caractérisation des goudrons végétaux [5].

II.2 Chromatographie sur Couche Mince (CCM)

II.2.1 Définition

La chromatographie sur couche mince (CCM) (figure II.2) est une technique analytique rapide permettant la séparation, l'identification et le contrôle de pureté des composés chimiques d'un mélange. Elle repose sur la migration différentielle des substances sur une fine couche de phase stationnaire déposée sur un support solide [1].

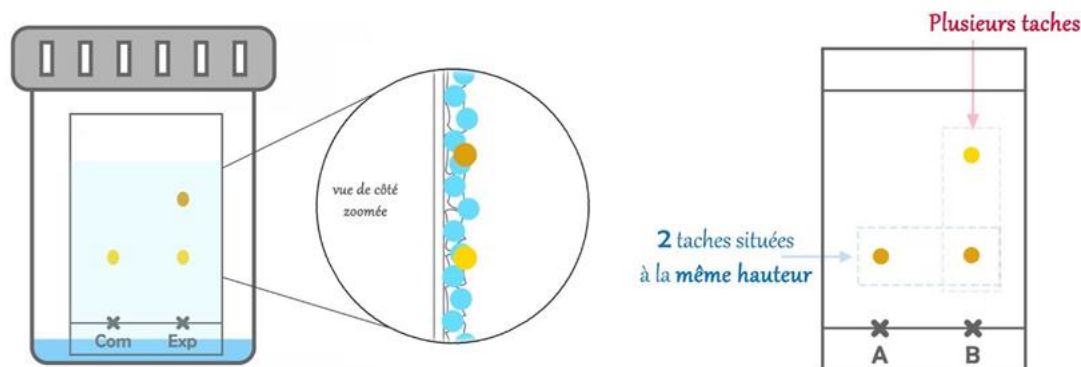


Fig. II.2 : Chromatographie sur couche mince

II.2.2 Principe de la CCM

Le principe de la CCM repose sur la répartition des composés entre :

- ❖ Une phase stationnaire (silice ou alumine),
- ❖ Une phase mobile (solvant ou mélange de solvants).

Les composés migrent différemment selon leur polarité et leur affinité avec la phase stationnaire [2]. Les composés les plus polaires sont retenus plus fortement, tandis que les composés apolaires migrent plus loin avec le solvant [3].

II.2.3 La plaque de CCM

II.2.3.1 Définition

La plaque de CCM est un support rigide recouvert d'une fine couche uniforme de phase stationnaire, généralement la silice gel, utilisée pour la séparation des composés [1].

II.2.3.2 Composition de la plaque

Une plaque de CCM comprend :

- ❖ **Support** : verre, aluminium ou plastique [4],
- ❖ **Phase stationnaire** : silice, alumine ou cellulose [2],
- ❖ **Liant** : gypse ou polymère assurant l'adhérence [3].

II.2.3.3 Caractéristiques

- ❖ Épaisseur de la couche : 0,1 à 0,25 mm,
- ❖ Surface homogène et stable,
- ❖ Plaques souvent fluorescentes (F254) pour détection UV [1].

II.2.4 Étapes de la CCM

II.2.4.1 Dépôt de l'échantillon

L'échantillon est déposé sous forme de petite goutte sur la ligne de base à l'aide d'un capillaire [4].

II.2.4.2 Développement

La plaque est placée dans une cuve contenant la phase mobile. Le solvant monte par capillarité [2].

II.2.4.3 Séparation

Les composés migrent selon leur affinité avec la phase stationnaire et leur solubilité dans le solvant [3].

II.2.4.4 Révélation

Les taches sont visualisées sous UV ou par pulvérisation de réactifs chimiques (iode, ninhydrine) [1].

II.2.5 Facteur de rétention (Rf)

$$R_f = (\text{distance parcourue par le composé}) / (\text{distance parcourue par le front du solvant})$$

Le facteur de rétention (Rf) est un paramètre important permettant l'identification des composés. Il varie entre 0 et 1 selon la polarité des substances [2].

II.2.6 Applications

La CCM est utilisée pour :

- ❖ L'identification des composés organiques [1],
- ❖ Le contrôle de pureté des extraits végétaux [2],
- ❖ L'analyse des huiles essentielles et goudrons végétaux [3],
- ❖ Le suivi des réactions chimiques [4].

II.3 Spectroscopie Infrarouge (IR)

II.3.1 Définition

La spectroscopie infrarouge (figure II.3) est une technique d'analyse qui repose sur l'absorption du rayonnement infrarouge par les molécules, entraînant des transitions vibrationnelles. Chaque liaison chimique possède une fréquence d'absorption caractéristique, ce qui permet d'obtenir une véritable « empreinte digitale » moléculaire [6].



Fig. II.3 : Spectroscopie infrarouge

II.3.2 Le rayonnement infrarouge

Le rayonnement infrarouge (IR) fut découvert en 1800 par Frédéric Wilhelm Hershel. Ces radiations sont situées entre la région du spectre visible et des microondes.

Le domaine infrarouge s'étend de 12500 cm^{-1} et 10 cm^{-1} . Il est divisé en 3 catégories :

- ❖ Le proche infrarouge : $12500\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$,
- ❖ Le moyen infrarouge : $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$,
- ❖ Le lointain infrarouge : $400\text{-}10\text{ cm}^{-1}$ [7].

II.3.3 Principe

La spectroscopie IR est basée sur l'interaction de la lumière IR avec le nuage électronique des liaisons chimiques. Généralement dans la majorité des spectroscopies optiques comme la spectroscopie de l'UV/visible, l'absorption d'énergie permet à un électron d'une liaison chimique de passer d'un état fondamental à un état excité. Dans le cas de la spectroscopie d'absorption IR, le rayonnement émis par la source polychromatique n'est généralement pas assez énergétique pour provoquer des transitions électroniques, mais il induit des transitions entre les niveaux d'énergie vibrationnelle et rotationnelle. Ce qui va donc conduire à des mouvements de vibration et de rotation au sein de la molécule [7].

Donc à chaque groupe d'atomes subissant ces mouvements il correspondra une bande d'absorption caractérisé par un nombre d'onde (ν) bien déterminé. Seules les vibrations qui font varier le moment dipolaire de la molécule absorbent les radiations infrarouges. Les transitions vibrationnelles nécessitent plus d'énergie que les transitions rotationnelles. Aussi la lumière excitatrice provoquera-t-elle, pour chaque transition vibrationnelle, une multitude de transitions rotationnelles, qui vont donner au pic de transition vibrationnelle l'allure d'une bande d'absorption. La majorité des applications se situe entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} (IR moyen). Ce domaine correspond aux transitions moléculaires de type vibration et rotation, lesquelles conduiront à des absorptions. Les transitions entre niveaux de rotation apparaissent dans l'IR lointain [7].

- ❖ **Transitions électroniques** : ont lieu dans le domaine de l'UV-visible (spectroscopie UVvisible).
- ❖ **Transitions vibrationnelles** : ont lieu dans le domaine du proche et du moyen infrarouge.
- ❖ **Transitions rotationnelles** : ont lieu dans le domaine de l'infrarouge lointain et microonde [7].

II.3.4 Instrumentation

Un spectromètre IR (souvent FTIR) comprend :

- ❖ Une source IR (Globar ou Nernst),
- ❖ Un interféromètre (dans le cas du FTIR),
- ❖ Un compartiment échantillon,
- ❖ Un détecteur (DTGS ou MCT),
- ❖ Un système informatique pour le traitement du signal [8].

La technique FTIR (Transformée de Fourier) permet une acquisition rapide et une meilleure résolution [9].

II.3.5 Modes de vibration (Spectroscopie infrarouge)

En spectroscopie infrarouge (IR), les **modes de vibration** correspondent aux différents mouvements oscillatoires des atomes au sein d'une molécule lorsqu'elle absorbe un rayonnement infrarouge. Ces vibrations sont directement liées aux liaisons chimiques et permettent l'identification des groupes fonctionnels présents dans les matériaux [10].

Une molécule n'est pas rigide ; ses atomes vibrent en permanence autour de leurs positions d'équilibre. Lorsqu'une radiation IR possède une fréquence égale à celle d'une vibration moléculaire, il y a absorption d'énergie, entraînant une transition vibrationnelle [11].

II.3.6 Types fondamentaux de vibrations moléculaires

Les vibrations moléculaires se divisent en deux grandes catégories principales [10, 11] :

II.3.6.1 Vibrations de valence (stretching)

Elles correspondent à une variation de la **longueur de liaison** entre deux atomes.

- **Vibration de valence symétrique** : les liaisons s'allongent ou se contractent simultanément de manière symétrique.
- **Vibration de valence asymétrique** : une liaison s'allonge tandis qu'une autre se contracte.

Ces vibrations apparaissent généralement dans la région des **hauts nombres d'onde (4000–1500 cm⁻¹)** [12].

II.3.6.2 Vibrations de déformation (bending)

Elles correspondent à une variation de l'**angle entre les liaisons**, sans modification importante de leur longueur. On distingue plusieurs types [10, 11] :

- **Scissoring (cisaillement)** : mouvement dans le plan, rapprochement et éloignement des atomes.
- **Rocking (balancement)** : déplacement des atomes dans le même sens.
- **Wagging (balancement hors du plan)** : mouvement simultané hors du plan moléculaire.
- **Twisting (torsion)** : rotation opposée des atomes hors du plan.

Ces vibrations se situent principalement dans la région **1500–400 cm⁻¹**, appelée zone d'empreinte digitale [12].

II.3.7 Préparation de l'échantillon en spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge repose sur l'interaction du rayonnement IR avec les vibrations des liaisons chimiques. L'échantillon doit donc être préparé de manière à assurer une interaction optimale avec le faisceau incident tout en minimisant les phénomènes de diffusion et d'absorption parasite.

II.3.7.1 Échantillons solides

Les solides constituent la majorité des échantillons analysés en IR. Plusieurs méthodes de préparation sont utilisées :

II.3.7.1.1 Méthode de la pastille de KBr

La technique la plus répandue est celle de la **pastille de bromure de potassium (KBr)**. Elle consiste à :

- ❖ Sécher soigneusement le KBr afin d'éliminer toute trace d'humidité (le KBr étant hygroscopique),
- ❖ Broyer finement une très petite quantité d'échantillon (quelques mg),
- ❖ Mélanger intimement l'échantillon avec environ 100 fois son volume de KBr,
- ❖ Comprimer le mélange sous forte pression afin d'obtenir une pastille transparente aux infrarouges.

Cette méthode permet d'obtenir un spectre de bonne résolution, mais nécessite une préparation rigoureuse pour éviter les interférences dues à l'eau ou aux impuretés [13].

II.3.7.1.2 Technique de suspension (mull)

Dans cette méthode, l'échantillon finement broyé est dispersé dans une huile minérale (souvent le nujol). La suspension obtenue est ensuite déposée entre deux fenêtres transparentes en sel (NaCl ou KBr).

- ❖ **Avantage** : méthode simple et rapide.
- ❖ **Limite** : présence de bandes d'absorption dues à l'huile utilisée (interférences possibles) [13].

II.3.7.1.3 Réflexion totale atténuée (ATR)

La technique ATR (Attenuated Total Reflection) est une méthode moderne largement utilisée en analyse IR :

- ❖ L'échantillon est directement déposé sur un cristal à haut indice de réfraction (diamant, ZnSe, Ge),
- ❖ Le rayonnement IR pénètre légèrement dans l'échantillon (profondeur micrométrique),
- ❖ Aucune préparation complexe n'est nécessaire.

Cette technique présente l'avantage majeur d'être rapide, reproductible et non destructive, ce qui la rend particulièrement adaptée aux matériaux polymères, biologiques et aux goudrons végétaux [11].

II.3.7.2 Échantillons liquides

Les liquides sont généralement analysés sous forme de :

- **Films minces** obtenus entre deux plaques transparentes en sel (NaCl, KBr),
- **Cellules liquides à épaisseur contrôlée**, permettant une meilleure reproductibilité des mesures.

Le choix du solvant est essentiel : il doit être transparent dans la région infrarouge et ne pas interférer avec les bandes analytiques de l'échantillon (ex. tétrachlorure de carbone, chloroforme, sulfure de carbone) [13].

II.4 Spectroscopie UV-Visible (UV-Vis)

La spectroscopie UV-Visible (figure II.4) est une technique analytique d'absorption basée sur l'interaction entre la matière et un rayonnement électromagnétique dans les domaines de l'ultraviolet (200–400 nm) et du visible (400–800 nm). Elle permet l'étude des transitions électroniques au sein des molécules et constitue une méthode fondamentale en analyse chimique, en caractérisation des matériaux et en suivi cinétique des réactions [1].

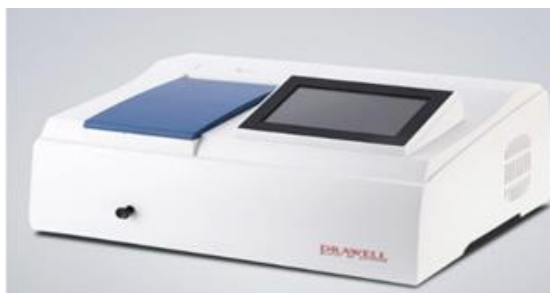


Fig. II.4 : Spectrophotomètre UV-Visible

II.4.1 Principe

Dans une molécule, les transitions électroniques UV-Visibles mettent en jeu les énergies les plus importantes de la chimie (160 à $665 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$). L'ordre de grandeur des énergies mises en jeu est celui des énergies de liaison des molécules et ces rayonnements peuvent parfois provoquer des ruptures de liaisons. Plus généralement, ils provoquent des transitions électroniques entre les différents niveaux d'énergie des molécules. L'absorption de photons se traduit par des transitions d'électrons engagés dans les orbitales moléculaires (les électrons des liaisons σ et π ainsi que les non liants n) de l'état fondamental et les niveaux non occupés des états excités (σ^* et π^*). Chaque transition est caractérisée à la fois par sa longueur d'onde λ_{max} et par son coefficient d'absorption molaire : ϵ_{max} à cette longueur d'onde (figure II.5) [7].

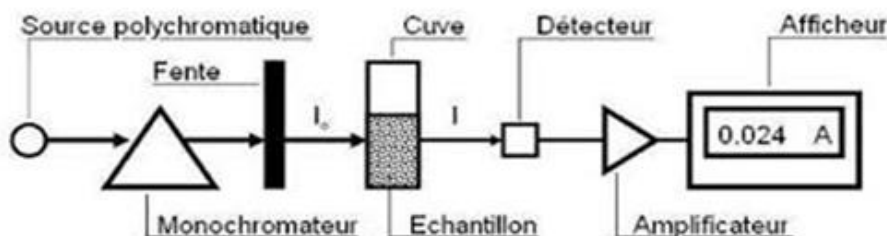


Fig. II.5 : Principe de spectrophotomètre UV-Visible

II.4.2 Domaine spectral

Dans une molécule, les transitions électroniques ont lieu dans la région de l'ultraviolet (400 - 10 nm environ) et du visible (800 - 400 nm).

- ❖ Visible : 800 - 400 nm ,
- ❖ Proche-UV : 400 - 200 nm ,
- ❖ UV-lointain : 200 - 10 nm ,
- ❖ Domaine UV utilisable en analyse : 190 - 400 nm . Donc le lointain UV n'est pas accessible aux mesures dans ces conditions,
- ❖ Domaine visible utilisable en analyse : 400 - 800 nm [7].

II.4.3 Les principales transitions observables en spectrométrie UV-Visible

II.4.3.1 Transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$

Elle correspond au passage d'un électron d'une orbitale moléculaire (OM) liante σ à un OM anti liante σ^* . Domaine spectral : UV lointain [7].

II.4.3.2 Transitions $n \rightarrow \sigma^*$

Les composés constitués d'un ou plusieurs atomes (O, N, S, Cl) porteurs de doublets électroniques libres présentent ce type de transitions. Les énergies mises en jeu sont généralement inférieures à celles des transitions $\sigma \rightarrow \sigma^*$. Elles correspondent à des longueurs d'onde comprises entre 150 et 250 nm [7].

II.4.3.3 Transitions $n \rightarrow \pi^*$

Elle correspond au passage d'un électron d'un doublet à un OM antiliante π^* . Elle se produit dans le cas d'un doublet d'un hétéroatome dans un système insaturé. Exemple : le groupement carbonyle $>C=O$ (270-280 nm) [7].

II.4.3.4 Transitions $\pi \rightarrow \pi^*$

Les composés qui possèdent une double liaison éthylénique isolée conduisent à une forte bande d'absorption vers 170 nm avec un coefficient d'absorption allant de 1000 à plus de 10 000 $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$ [7].

II.4.3.5 Transition $d \rightarrow d$

Elle concerne les métaux de transition ayant des électrons dans les (OM) d. Elles sont à l'origine de la couleur de nombreux sels inorganiques [7].

II.4.4 Loi de Beer-Lambert

L'intensité de l'absorption est décrite par la loi de Beer-Lambert :

$$A = \epsilon l C$$

Avec :

- ❖ A : absorbance,
- ❖ ϵ : coefficient d'extinction molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$),
- ❖ l : épaisseur de la cuve (cm),
- ❖ c : concentration de l'espèce absorbante ($mol \cdot L^{-1}$).

Cette relation est fondamentale pour les dosages quantitatifs en UV-Visible, car elle permet de relier directement l'absorbance à la concentration de l'analyte [1].

II.4.5 Instrumentation UV-Visible

Un spectrophotomètre UV-Visible est généralement constitué de plusieurs éléments :

II.4.5.1 Source lumineuse

- ❖ Lampe au deutérium (UV),
- ❖ Lampe tungstène-halogène (visible).

II.4.5.2 Système de sélection de longueur d'onde

- ❖ Monochromateur (prisme ou réseau de diffraction).

II.4.5.3 Compartiment échantillon

- ❖ Cuves en quartz (UV et visible),
- ❖ Cuves en verre (visible uniquement).

II.4.5.4 Détecteur

- ❖ Photodiode ou photomultiplicateur.

Le signal détecté est ensuite converti en spectre d'absorption en fonction de la longueur d'onde [2].

II.4.6 Préparation de l'échantillon en UV-Visible

La préparation d'échantillon est essentielle pour garantir la validité des mesures spectroscopiques.

II.4.6.1 Préparation des solutions

L'échantillon est généralement analysé sous forme de solution homogène :

- ❖ Dissolution complète dans un solvant approprié,
- ❖ Choix d'un solvant transparent dans la zone UV-Visible,
- ❖ Filtration pour éliminer les particules en suspension,
- ❖ Ajustement de la concentration pour rester dans la zone linéaire de Beer-Lambert.

Une concentration trop élevée peut entraîner une saturation du signal, tandis qu'une concentration trop faible diminue la sensibilité analytique [1].

II.4.6.2 Choix du solvant

Le solvant joue un rôle déterminant et doit répondre aux critères suivants :

- ❖ Transparence dans la région étudiée,
- ❖ Absence de bandes d'absorption interférentes,
- ❖ Stabilité chimique avec l'échantillon.

Les solvants les plus utilisés sont : eau distillée, méthanol, éthanol et acétonitrile [1, 2].

II.4.6.3 Cuves d'analyse

Les cuves utilisées doivent être adaptées à la région spectrale :

- ❖ **Quartz** : indispensable pour les mesures UV (< 400 nm),
- ❖ **Verre ou plastique** : uniquement pour le visible.

La longueur du trajet optique est généralement de 1 cm, afin d'assurer une standardisation des mesures [2].

II.4.6.4 Précautions expérimentales

Pour garantir la fiabilité des résultats :

- ❖ Élimination des bulles d'air dans les cuves,
- ❖ Nettoyage rigoureux des cuves,
- ❖ Utilisation de solutions fraîchement préparées,
- ❖ Stabilisation de la ligne de base (blanc du solvant).

II.5 Analyse Rhéologique

II.5.1 Définition

La rhéologie est la science qui étudie la déformation et l'écoulement des matériaux sous l'action de contraintes mécaniques. Elle permet de caractériser le comportement viscoélastique des fluides et des solides, en reliant les propriétés microscopiques (structure, interactions moléculaires) aux réponses macroscopiques (viscosité, élasticité, plasticité) [14].

II.5.2 Principe

Le principe d'analyse rhéologique (figure II.6) repose sur l'application d'une contrainte (cisaillement, compression, traction ou oscillation) à un matériau, puis sur la mesure de sa réponse en termes de déformation ou de vitesse d'écoulement :

- **Matériaux newtoniens** : la viscosité est constante, indépendante du taux de cisaillement (ex : eau, huiles minérales).

- **Matériaux non-newtoniens** : la viscosité varie selon le cisaillement (ex : polymères fondus, suspensions, pâtes alimentaires).
- Les essais oscillatoires permettent de distinguer la part élastique (module de stockage G') et la part visqueuse (module de perte G'').
- Les essais en température ou en fréquence révèlent les transitions structurales (gélification, vitrification, fusion).

Ainsi, la rhéologie fournit des informations essentielles pour la conception, la transformation et l'utilisation des matériaux [15].

II.5.3 Fondements Théoriques

Les matériaux peuvent présenter un comportement **newtonien** (viscosité constante) ou **non-newtonien** (viscosité dépendante du taux de cisaillement). Les paramètres principaux sont :

- ❖ La viscosité dynamique η .
- ❖ Le module de stockage G' (composante élastique).
- ❖ Le module de perte G'' (composante visqueuse).
- ❖ Le facteur de perte $\tan \delta = G''/G'$.

Ces grandeurs permettent de caractériser le comportement viscoélastique et d'identifier des phénomènes tels que la **thixotropie** ou la gélification [16].



Fig. II.6 : Rhéomètre Brookfield RST-CPS

Références bibliographiques

- [1]. Skoog, D.A., Holler, F.J., Crouch, S.R. (2014). *Principles of Instrumental Analysis*. Boston: Cengage Learning.
- [2]. Harborne, J.B. (1998). *Phytochemical Methods*. London: Chapman & Hall
- [3]. Poole, C.F. (2003). *The Essence of Chromatography*. Amsterdam: Elsevier
- [4]. Meyer, V.R. (2010). *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. Chichester: Wiley.
- [5]. Snyder, L.R., Kirkland, J.J., Dolan, J.W. (2010). *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Hoboken: Wiley.
- [6]. Pavia, D.L., Lampman, G.M., Kriz, G.S., Vyvyan, J.R. (2015). *Introduction to Spectroscopy*. 5th ed. Stamford: Cengage Learning.
- [7]. AZZOUZ, *Méthodes d'analyses spectroscopiques*, Université Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2019–2020
- [8]. Smith B., *Infrared Spectral Interpretation*, CRC Press, 1999.
- [9]. Griffiths P.R., *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Wiley, 2007.
- [10]. Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J. (2005) *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th ed. New York: Wiley.
- [11]. Stuart, B. (2004). *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. Chichester: Wiley.
- [12]. Smith, B.C. (2011). *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press.
- [13]. Silverstein, R.M., Webster, F.X., Kiemle, D.J. (2005). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th ed. New York: Wiley.
- [14]. Barnes H.A., Hutton J.F., Walters K., *An Introduction to Rheology*, Elsevier, 1989.
- [15]. Couarraze G., Grossiord J.L. *Initiation à la rhéologie*, Tec & Doc, Paris, 2000.
- [16]. Guazzelli E. *Rhéologie des fluides complexes*, Octobre 2001

Chapitre III:
Matériels &
Méthodes

III.1 Objectif

L'objectif de notre travail est d'étudier la composition et les différentes activités d'extrait nommé « Goudron noir » des espèces *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill obtenu par décomposition pyrolytique traditionnelle.

III.2 Matériel végétal

Les goudrons végétaux nommés (Gatran) de *Juniperus thurifera* L. (figure 1. a) et *Pinus halepensis* Mill (figure III.1. b) ont fait l'objet de notre étude.



Fig. III.1 : Espèces *Juniperus thurifera* L. (a) et *Pinus halepensis* Mill (b)

III.3 Choix de station

L'échantillonnage de goudron noir des deux espèces *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill a été réalisé au niveau de la wilaya de Ghardaïa (figure III.2).

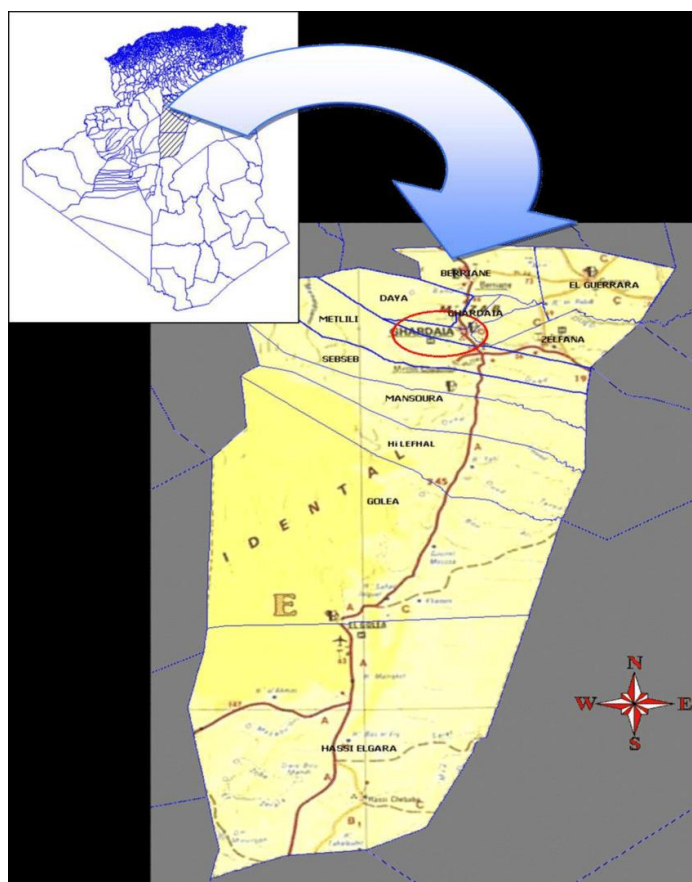


Fig. III.2 : Carte géographique de zone d'étude [1].

III.4 Pyrolyse (Matériel végétal)

La décomposition pyrolytique, est lancer en absence d'O₂ sous l'effet d'une chaleur intense (entre 300°C et 1000°C). Suite à cette opération, un liquide très visqueux d'une couleur noir est obtenu appeler goudron (figure III.3).

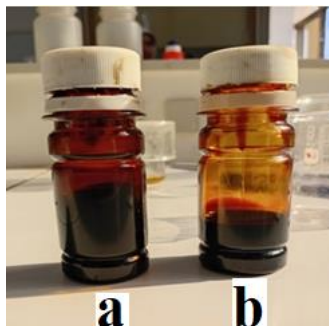


Fig. III.3 : Photos montrant goudron noir des deux espèces ;
a : *Juniperus thurifera* L., **b :** *Pinus halepensis* Mill.

III.5 Application et activité

III.5.1 Activité anti-radicalaire (méthode DPPH)

Le 2,2-diphényl -1-picrylhydrazyle (DPPH) est défini comme un radical libre stable en vertu de la délocalisation d'électron disponible, ce qui donne la couleur violette profonde, en présence des composés anti radicalaire, le radical DPPH (figure III.4) est réduit et change la couleur de violette en virant au jaune [2].

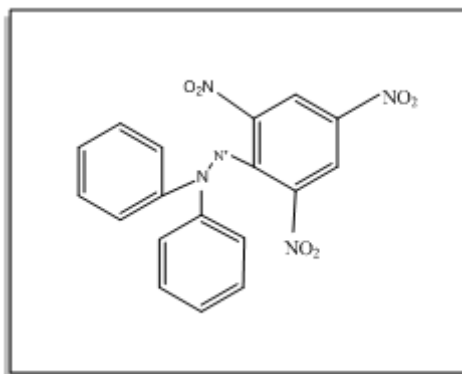


Fig. III.4 : Structure chimique du radical libre DPPH

III.5.1.1 Protocole expérimental

Ce test a été utilisé pour évaluer la capacité antioxydante de divers échantillons de goudron noir. La méthode suivante a été décrite par Aljeldah [3]. On dissout 0,8 mg de DPPH dans 20 ml de méthanol (0.004%). La solution préparée est rapidement conservée à +4°C à l'abri de la lumière. En effet, la réaction d'un mélange de 3,750 mL de DPPH dans du méthanol

et de 0,5 mL de solution de goudron noir préparée dans du méthanol a lieu à température ambiante. Le blanc est constitué de méthanol et le témoin négatif de DPPH, sans goudron noir. La neutralisation efficace du radical DPPH entraîne un changement de couleur du violet du mélange vers le jaune, avec une diminution conséquente d'absorbance. Les expériences ont été répétées en trois fois. La réduction du radical DPPH a été calculée en pourcentage d'inhibition à 5, 10, 15, 20, 25 et 30 minutes, selon la formule suivante :

$$I\% = [(Abs_{Con} - Abs_{Echan}) / Abs_{Con}] \times 100 \dots\dots\dots(III.1)$$

Où :

I% : pourcentage d'inhibition du radical DPPH par l'antioxydant,

Abs_{Con} : est l'absorbance de la réaction témoin (contenant tous les réactifs sans l'échantillon à tester),

Abs_{Echan} : est l'absorbance d'échantillon à tester.

III.5.2 Activité antimicrobienne

Nous avons adopté une technique standard pour la détermination de la susceptibilité des microorganismes (bactérie, levures, champignons,) aux agents antimicrobiens. Cette technique est réalisée selon les recommandations d'institut de laboratoire standard et clinique CLSI M02-A10 [4].

L'activité antimicrobienne de nos extraits contre différentes bactéries et levure a été testé en appliquons la méthode de diffusion en puits décrite par [5]. Une suspension bactérienne d'une culture jeune de 18 à 24 heures est ajustée à une turbidité standard 0.5 McFarland [6]. 0,1 ml de cette dernière est étalé à la surface de gélose MHA (Muller Hinton Agar). Les puits de 6 mm de diamètre sont remplis de 0,02 mL de Gatran. Après 1 heure de conservation à +4 °C, les boîtes pétris sont incubées au 37 °C pendant 24 heures. Le Gentamicine est utilisé comme témoin négative. Le pouvoir antimicrobien est estimé par la mesure de diamètre d'aréole au tour des puits. Les expériences ont été réalisées en triplicités.

III.6 Caractérisation des goudrons noir

III.6.1 Test de solubilité

Le test de solubilité permet de déterminer la capacité d'une substance (soluté) à se dissoudre dans un solvant pour former un mélange homogène. Afin d'atteindre cet objectif, quelques solvants polaire, apolaire et un mélange des deux (figure III.5) est utilisée pour dissoudre les deux échantillons de Goudron.



Fig. III.5 : Quelques solvants utilisés pour dissoudre les deux échantillons de Goudron

Pour cela, 1g de chaque variété du goudron noir est dissoute dans 10 mL du différents solvant précédemment décrit (acétate d'éthyle, dichlorométhane, Hexane) dans un bécher propre et sec. Après une légère agitation, laisser reposer pendant 2 minutes puis enregistrer les remarques.

III.6.2 Procédure de séparation liquide-liquide (phase aqueuse et organique)

Le goudron noir a été dissous dans l'acétate d'éthyle, ensuite, la solution obtenue a ensuite été transférée dans une ampoule à décanter (figure III.6), puis extraite avec une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 5% (2x30mL).

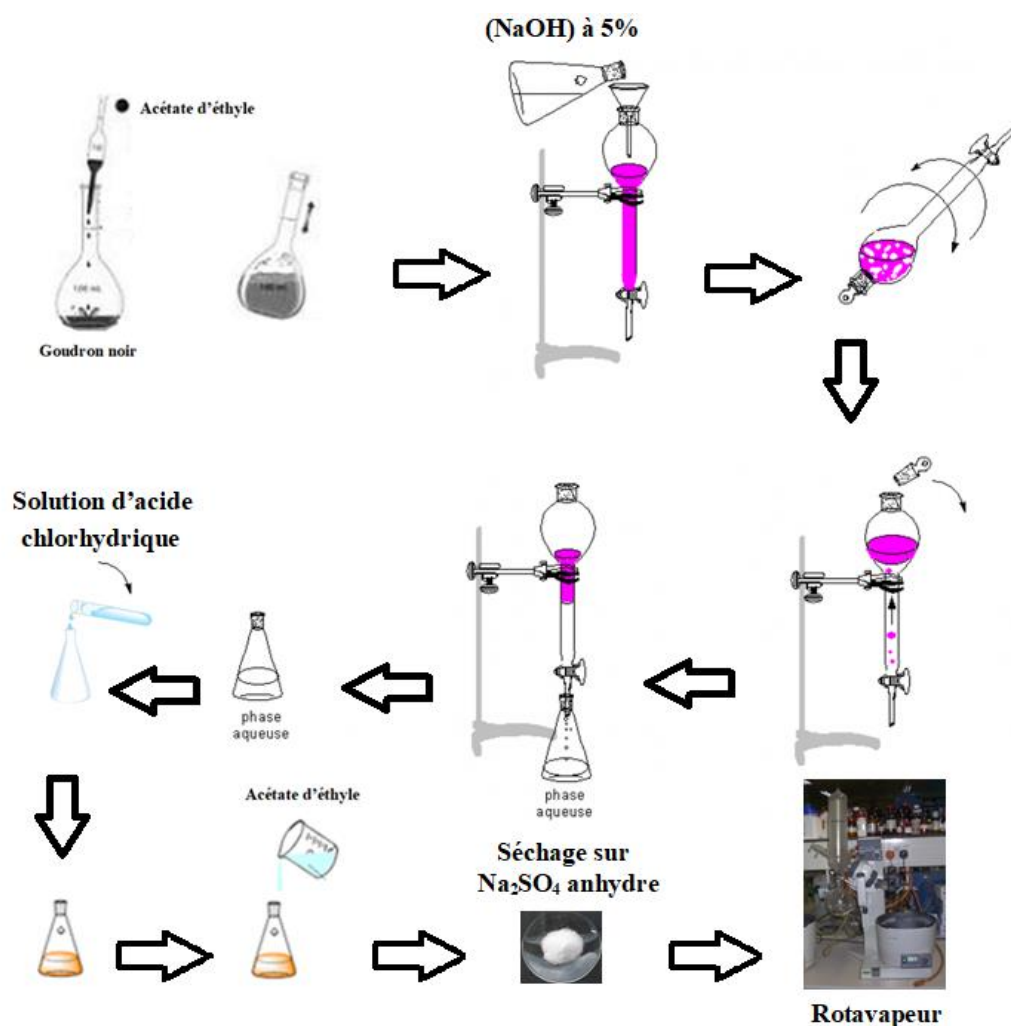


Fig. III.6 : Etapes pour préparation séparation liquide-liquide

Après agitation et décantation, deux phases ont été obtenues :

- Une phase organique sombre contenant principalement les composés neutres et hydrophobes.
- Une phase aqueuse alcaline contenant les composés phénoliques sous forme de phénolates solubles.

La phase aqueuse basique a ensuite été acidifiée par addition d'une Solution d'acide chlorhydrique jusqu'à atteindre un pH d'environ 2, conduisant à la reprotonation des composés phénoliques et à la formation d'une phase organique jaunâtre séparée.

Les fractions obtenues peuvent ensuite être extraites de nouveau avec l'acétate d'éthyle (2x30mL) puis séchage sur Na₂SO₄ anhydre. Finalement, l'acétate d'éthyle a été éliminé au Rotavapeur sous pression réduite (figure 6), puis la fraction obtenue a été analysée par CCM (éluant : Hexane/acétate d'éthyle (7/3 v/v)).

III.6.3 Chromatographie couche mince (CCM)

III.6.3.1 Principe

La technique présentée ici est la chromatographie sur couche mince (CCM). Elle utilise une phase stationnaire déposée sur une plaque d'aluminium. La phase mobile est entraînée par capillarité vers le haut de la plaque [7].

III.6.3.2 Protocole

Dans ce travail, la CCM a été utilisée pour la séparation et la mise en évidence des composés présents dans les deux extraits obtenus afin de vérifier leurs compositions.

Dans un premier temps, on introduit dans notre cuve (système chromatographique), l'éluant choisi. Ce dernier peut être un solvant comme il peut être un mélange de plusieurs solvants. Pour notre cas, nous avons adopté l'éluant suivant :

Premier éluant : acétate d'éthyle (10 mL).

Deuxième éluant : dichlorométhane (7 mL) + acétate d'éthyle (3 mL)

Troisième éluant : Hexane (7 mL) + acétate d'éthyle (3 mL).

Au début de test, une ligne de dépôt a été tracée à environ 1 cm du bord de la plaque ; sur laquelle et à l'aide d'une micropipette 0,5 µL de chaque échantillon (Goudron noir) a été déposée puis sécher rapidement. Une fois elle est prête, placée la plaque dans la cuve chromatographique contenant le système éluant et la recouvrir. Lorsque le front du solvant se trouve à environ de 1 cm d'extrémité supérieur, arrêter le test en retirant la plaque puis la sécher à l'air libre. Une lampe UV est utilisée **comme moyen de** révélation des tâches. Les positions des taches (spots) colorées doivent être notées en les cerclant juste à la fin de la chromatographie car certains produits disparaissent avec le temps. Enfin calculer le rapport frontal (Rf) pour chaque spot par la relation suivante :

$$Rf = \frac{\text{Distance parcourue par le constituant}}{\text{Distance parcourue par l'éluant}} \dots\dots\dots(\text{III.2})$$

Où :

Rf : est le rapport frontal.

III.6.4 Chromatographie sur colonne

Cette technique permet de séparer et purifier les différents constituants du goudron noir en fonction de leur polarité. Et on utilise la chromatographie sur colonne cette technique

exploite les différents d'affinité des composés vis-à-vis de la phase stationnaire (silice) et de phase mobile (figure III.7).



Fig. III.7 : Etapes pour préparation de chromatographie sur colonne

III.6.5 Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

La spectrométrie FTIR (IRTF Tensor 27 Platinum ATR Bruker) est utilisée pour les deux échantillons pour permettre une identification qualitative.

III.7 Méthodologie Expérimentale d'Analyse Rhéologique

Les essais ont été réalisés à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée, équipé de géométries cône-plan et plaques parallèles. Un système de régulation thermique (bain thermostaté) a permis de maintenir la température à 25 °C [8].

Les échantillons ont été conditionnés afin d'éliminer les bulles d'air et homogénéisés [9].

III.7.1 Protocoles Expérimentaux

- ❖ Essai de viscosité : balayage en taux de cisaillement de 0,1 à 100 s⁻¹ pour déterminer la courbe d'écoulement.
- ❖ Essai oscillatoire : balayage en amplitude pour définir le domaine linéaire viscoélastique, puis balayage en fréquence (0,1–100 Hz) pour obtenir G' et G'' [10].

Références bibliographiques

- [1]. Anonyme. <http://www.bioinformaticstools.org/fima/>
- [2]. Popovici C., Saykova I., Tylkowski B. (2010). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH.
- [3]. Aljeldah, M.M. (2022). Antioxidant and Antimicrobial Potencies of Chemically-Profiled Essential Oil from *Asteriscus graveolens* against Clinically-Important Pathogenic Microbial Strains, *Molecules*. 27, 3539.
- [4]. Mensor L.L., Menezes F.S., Leitão G.G., Reis A.S., Santos T.C., Coube C.S. Leitão S.G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant isoactivity by the use of DPPH free radical method. *Phytother. Res.* 15: 127-130.
- [5]. CLSI-Publishes. 2009. Antimicrobial susceptibility testing standards.
- [6]. Hamideh, Jaberian., Khosro, Piri., Javad, Nazari. (2013). Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry*. 36, 237-244.
- [7]. Anthony Bourgeais. Culture science chimie. Edith Thummen. 2002
- [8]. Peuvrel, D. *Rhéologie*, Vol. 21, pp. 36–67, 2012.
- [9]. Vu T.S. (2010). *Rhéologie des suspensions non newtoniennes*. Champs-sur-Marne.
- [10]. Boger D.V., Walters K. (1993). *Rheological Phenomena in Focus*, Elsevier, Amsterdam.

Chapitre IV:
Résultats &
Discussions

IV.1 Introduction

Les extraits nommé « Goudron noir » des espèces *Juniperus thurifera* L. (V1) et *Pinus halepensis* Mill (V2) obtenu par décomposition pyrolytique traditionnelle ont fait l'objet de quelques essais afin de tester leurs potentiels antimicrobienne et antiradicalaire. Ces mêmes extraits ont été caractérisé par quelques techniques spectroscopiques et chromatographiques afin de définir les déferents composés présents et qui responsables des activités testées au paravent.

IV.2 Activité antimicrobienne des Goudrons noirs

Cette étude vise à évaluer l'activité antimicrobienne des deux Goudrons noirs des espèces *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill contre quelques souches bactériennes et fongiques sélectionnées : *Escherichia coli* (Gram-négatif), *Staphylococcus aureus* (Gram-positif), et *Candida albicans* (levure) en utilisant la méthode de diffusion en puits. 20 microlitres de chaque extrait ont été versés dans les puits.

Lors du ce test, on a noté que les deux extraits (Goudrons noirs) agisse différemment vis à vis des souches testées. Les résultats relatifs aux diamètres des zones d'inhibition (en mm) par effet des deux extraits et antibiotique sont représentés dans la figure IV.1.

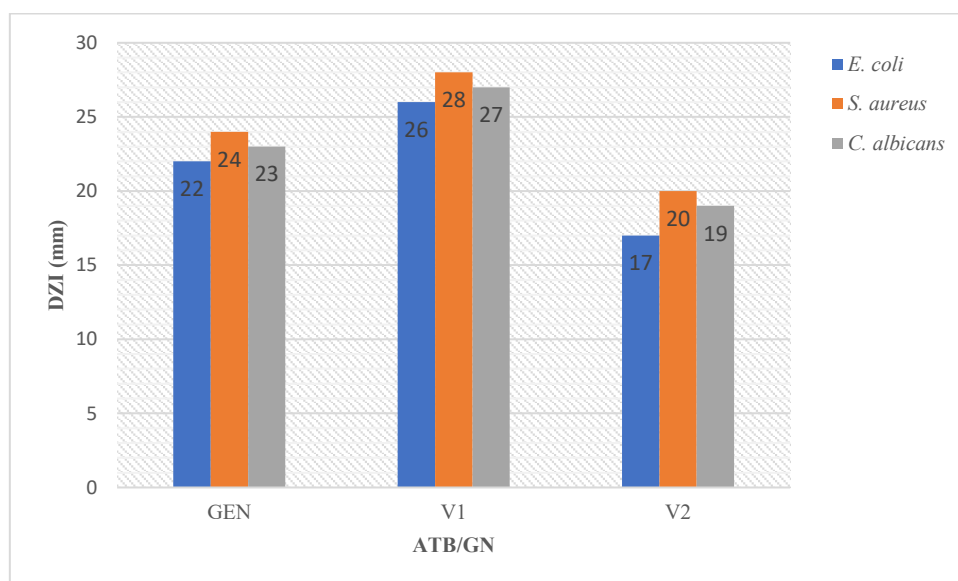
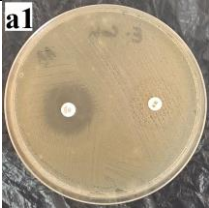
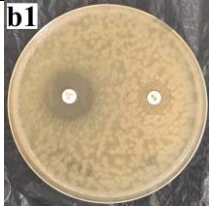
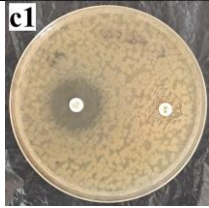
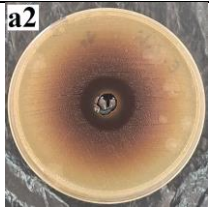
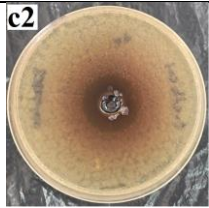
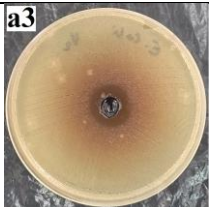
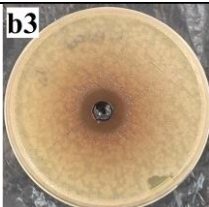
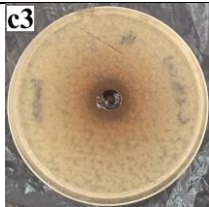


Fig. IV.1 : Résultats d'activité antimicrobienne

Nos résultats montrent que le Goudron noir de variété 1 (*Juniperus thurifera* L.) possède une activité antimicrobienne plus que la deuxième variété (*Pinus halepensis* Mill) et plus que le témoin (antibiotique Gentamicine) (tableau 1), bien que cette activité varie considérablement en fonction du type de micro-organisme ciblée. Les deux Goudrons ont démontré une efficacité contre *Staphylococcus aureus*. Cependant, le Goudron noir de variété 1 étant le plus puissant

(zone d'inhibition atteignant 28 mm) (tableau 1, b2), suivi d'antibiotique Gentamicine (Gent) (zone d'inhibition atteignant 24 mm) (tableau 1, b1), puis de Goudron noir de variété 2 (zone d'inhibition atteignant 20 mm) (tableau 1, b3).

Tableau 1 : Résultats d'activité antimicrobienne

		
Résultats d'activité d'AB (Gent) contre <i>E. coli</i>	Résultats d'activité d'AB (Gent) contre <i>S. aureus</i>	Résultats d'activité d'AB (Gent) contre <i>C. albicans</i>
		
Résultats d'activité de Goudron (V1) contre <i>E. coli</i>	Résultats d'activité de Goudron (V1) contre <i>S. aureus</i>	Résultats d'activité de Goudron (V1) contre <i>C. albicans</i>
		
Résultats d'activité de Goudron (V2) contre <i>E. coli</i>	Résultats d'activité de Goudron (V2) contre <i>S. aureus</i>	Résultats d'activité de Goudron (V2) contre <i>C. albicans</i>

Cet ordre d'efficacité suggère que les composés actifs contre *S. aureus*, tels que les phénols, les tanins et les flavonoïdes, sont plus abondants [1]. Ces résultats ont montré un effet prometteur du goudron de pin sur quelques espèces pathogènes. De nombreuses publications indiquent que le liquide de pyrolyse pourrait être un fongicide efficace en agriculture [2]. Murat Kizil *et al.* [1] ont testé le goudron de *P. brutia*, qui a présenté une activité élevée. Dans une autre étude, le goudron de *Juniperus thurifera* L. a été utilisé contre 6 souches de *Fusarium*, dont *F. oxysporum*. La croissance fongique a été complètement inhibée par le goudron. Cette

activité antibactérienne démontre que ces extraits ont un effet plus inhibiteur sur les souches gram positifs que les grams négatifs. Plusieurs travaux ont mis en évidence la grande sensibilité des bactéries Gram (+) par rapport aux Gram (-) [3], Cette différence de sensibilité est due à une mauvaise perméabilité de la membrane cellulaire externe contenant des lipopolysaccharides hydrophiles chez les bactéries Gram-négatives [4, 5].

En plus, Ce potentiel d'activité contre les bactéries Gram-positives est attribuée à la capacité des composés phénoliques et des tanins à perturber les membranes cellulaires bactériennes, à inhiber les enzymes vitales et à former des complexes avec les protéines bactériennes ou la paroi cellulaire [6-8]. Gorniak *et al.*, [9], ont montrés qu'à ce jour, les flavonoïdes, ont été largement étudiés et souvent liés à leurs propriétés antimicrobiennes et aussi liés aux interactions avec la membrane cellulaire chez les bactéries Gram positives et Gram négatives. Rhayour *et al.*, [10] Ont expliqué la sensibilité des bactéries testées par la lyse cellulaire suite à une action des extraits sur la paroi et la membrane des bactéries en provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires. D'autre étude, démontrés par Cvetanović *et al.*, & Bouhdid *et al.* [11, 12], ont justifié la sensibilité des bactéries par la destruction du matériel génétique, provoque la mort de la bactérie. D'autre part les flavonoïdes possèdent de mécanisme de toxicité par des interactions non spécifiques telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires des microorganisme (les adhésines) [13].

En comparant l'efficacité des goudrons avec celle d'antibiotique de référence, indiquez ici, les goudrons ont une activité nettement plus puissante mais restent prometteurs en tant que source naturelle. Bien que les goudrons végétaux dépassent l'efficacité des antibiotiques synthétiques, leur activité, souligne le potentiel des goudrons de *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill comme source naturelle de composés aux propriétés antimicrobiennes. Ces composés pourraient être utiles dans le développement de nouvelles thérapies ou comme agents adjuvants pour réduire la dépendance aux antibiotiques conventionnels. Ces résultats confirment le potentiel pharmacologique des *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill et justifient des recherches supplémentaires pour isoler et identifier les composés biologiquement actifs responsables de cette activité, et éventuellement explorer leurs mécanismes d'action, dans le but de développer de nouvelles thérapies naturelles.

IV.3 Activité antiradicalaire des Goudrons noirs

Le test DPPH est une méthode simple, rapide, populaire et peu coûteuse pour mesurer l'activité antioxydante. Ce test consiste à convertir les radicaux du DPPH (violet intense) en molécules stabilisées en présence d'un antioxydant [14, 15].

L'activité antioxydante des deux variétés de Goudron noir des espèces *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill a été évaluée par la méthode de DPPH. Les résultats sont présentés sur le graphique (figure IV.2).

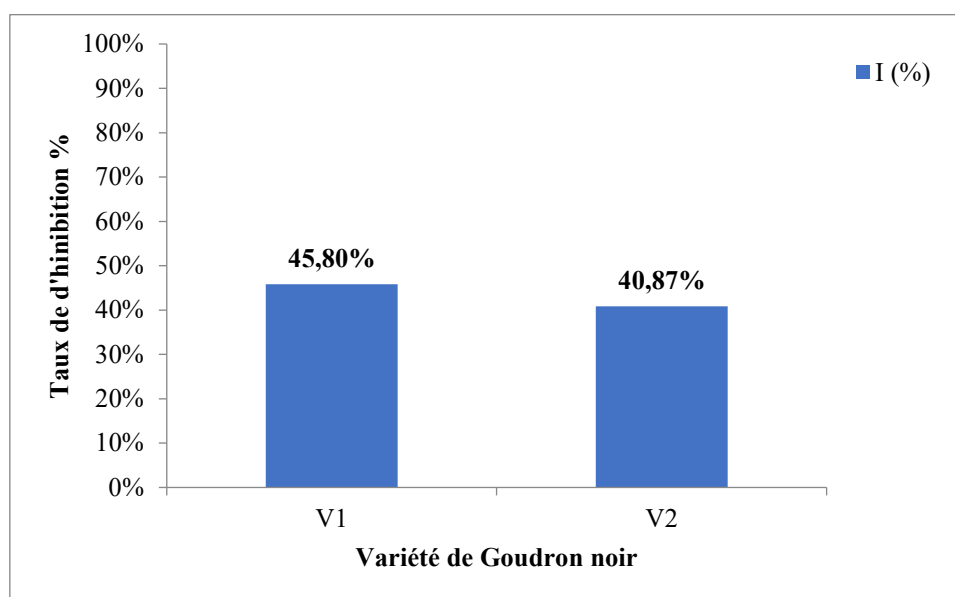


Fig. IV.2 : Résultats d'activité antioxydante

Nos résultats d'absorbance obtenus lors du test DPPH à 517 nm pour les Goudrons noirs, des deux espèces *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill fournisse une évaluation quantitative précieuse de leur potentiel antioxydant. Suite à cela, nous avons établi que le goudron noir de la variété 1 (*Juniperus thurifera* L.) est le plus actif, avec une I % d'environ 45.80 %, suivi de près par le goudron noir de la variété 2 (*Pinus halepensis* Mill) avec environ 40.87 %. De cela on peut dévoiler que l'activité antioxydante n'est pas strictement proportionnelle à la quantité totale de ces composés. Cette divergence suggère que la nature spécifique et la combinaison des polyphénols extraits, plutôt que leur seule quantité, jouent un rôle prépondérant dans leur capacité à piéger les radicaux libres du DPPH. Les différences observées peuvent être attribuées à la composition chimique spécifique de chaque extrait végétal, notamment en composés phénoliques qui sont connus pour leur forte activité antioxydante [16].

La richesse en flavonoïdes d'extrait contribue également à son activité antioxydante, comme le soulignent Turkmen *et al.* [17], qui notent que les flavonoïdes, en raison de leur structure chimique idéale, agissent efficacement comme donneurs d'hydrogène pour neutraliser le radical DPPH. Ces auteurs ont par ailleurs établi une corrélation positive entre la présence de composés antioxydants dans différentes plantes et leurs activités antioxydantes. Ainsi, les flavonoïdes sont identifiés comme des agents potentiellement antioxydants, capables de

séquestrer les espèces radicalaires et les formes réactives d'oxygène. Le mécanisme sous-jacent d'interaction entre ces antioxydants et le radical DPPH est influencé par la structure conformationnelle d'antioxydant ainsi que par le nombre de groupes hydroxyles (OH) présents sur les structures des flavonoïdes, qui modulent divers mécanismes antioxydants [18]. D'après ces résultats, nous avons conclu que l'effet scavenger augmente avec l'augmentation de la concentration des polyphénols dans l'extrait (Goudron noir). Ce qui suggère que l'effet antioxydant d'extrait de plante est lié à la quantité de polyphénols présents. Cette hypothèse est confirmée par plusieurs chercheurs [19-21].

Ce test renforce l'idée que les goudrons noirs des deux espèces sont une source très prometteuse d'antioxydants naturels. Notre travail met ainsi en lumière non seulement le potentiel antioxydant intrinsèque de ces plantes, mais aussi sur le choix de plante à propriétés bioactives finales remarquables.

IV.4 Test de solubilité du goudron noir

Le goudron noir est un mélange complexe de composés organique, leur solubilité varie selon la nature du solvant utilisée. Les fractions insolubles correspondent généralement aux impuretés minérales, aux matière carbonés de haut poids moléculaire.

Le test de solubilité a été réalisé sur les deux échantillons de goudron noir pour les deux espèces *Juniperus thurifera* L. (V1) et *Pinus halepensis* Mill (V2). Les résultats obtenus ont témoigné une solubilité identique pour les deux échantillons (tableau 2).

Tableau 2 : Résultats de test de solubilité

Produits	Polarité	Délutions	Solubilité	
			V1	V2
Petroleum éther (40-60c°)	Apolaire	Mauvaise	(-)	(-)
Cyclo hexane	Apolaire	Parfaite	(-)	(-)
Dichlorométhane	Polaire	Parfaite	(+)	(+)
Acétate d'éthyle	Polaire	Parfaite	(+)	(+)
Ethanol	Polaire	Mauvaise	(+)	(+)

(+) : Soluble, (-) : No Soluble

Parallèlement, des combinaisons composées de deux solvants dont le premier est polaire et le seconde est Apolaire est testée. Quelques résultats obtenus sont présentés dans la figure 3.

IV.4.1 Solvants polaires

Les goudrons noirs présentent une solubilité parfaite dans les trois solvants polaires testés, à savoir le dichlorométhane (DCM), l'acétate d'éthyle et l'éthanol. Ce comportement indique que la majorité des composés constituant le goudron noir possède un caractère polaire marqué :

- L'acétate d'éthyle ($\epsilon = 6,02$), de polarité intermédiaire, permet également une dissolution complète, témoignant de la présence de composés à polarité modérée (esters, lactones, cétones) [22].
- L'éthanol ($\epsilon = 24,55$), solvant polaire protique, solubilise efficacement les composés hydroxylés tels que les phénols, les acides organiques et les alcools qui sont caractéristiques des produits de pyrolyse du bois [22].
- Dichlorométhane ($\epsilon \approx 1,8$), ne peut solubiliser que des hydrocarbures saturés apolaires. Sa faible efficacité sur le goudron noir confirme la faible proportion de tels composés dans la fraction majoritaire du goudron [23].

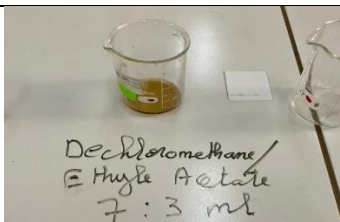
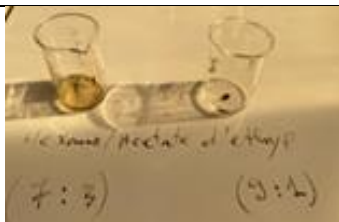
		
Dichlorométhane / éthyle acétate (7:3)	Ethyle acétate /méthanol (7:3)	Hexane / acétate d'éthyle (7:3) (9:1)

Fig. IV.3 : Résultats de test de solubilité avec des solvants combinées

IV.4.2 Solvants apolaires

En revanche, le goudron noir montre une très faible solubilité dans les solvants apolaires dont l'éther de pétrole (40-60°C) et le cyclohexane. Ces deux solvants n'ont pas réussi à dissoudre de manière satisfaisante l'échantillon, laissant apparaître un résidu important après agitation :

- L'éther de pétrole, composé principalement d'alcanes légers ($\epsilon \approx 1,8$), ne peut solubiliser que des hydrocarbures saturés apolaires. Sa faible efficacité sur le goudron noir confirme la faible proportion de tels composés dans la fraction majoritaire du goudron [24].
- Le cyclohexane ($\epsilon = 2,02$), apolaire de référence, présente des résultats similaires à l'éther de pétrole. Les fractions insolubles correspondent vraisemblablement aux

matières carbonées de haut poids moléculaire et aux impuretés minérales issues du processus de pyrolyse [24].

IV.5 la chromatographie sur colonne

Cette dernière a été réalisée sur les deux échantillons de goudron noir (Genévrier et Pin) à l'aide d'une phase stationnaire de silice (25 g) et d'une phase mobile constituée de dichlorométhane (DCM) et d'acétate d'éthyle (AcOEt) en gradient de polarité croissante (figure IV.4).

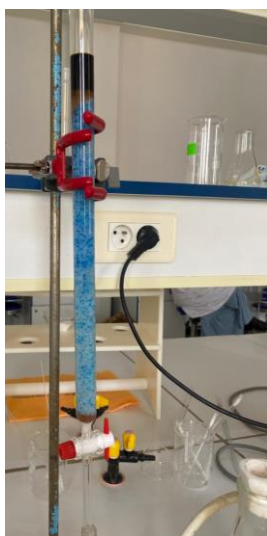


Fig. IV.4 : Image de chromatographie sur colonne

L'élution a été conduite successivement avec plusieurs systèmes de solvants afin de séparer les différentes familles de composés en fonction de leur affinité avec la silice.

IV.5.1 Observations macroscopiques

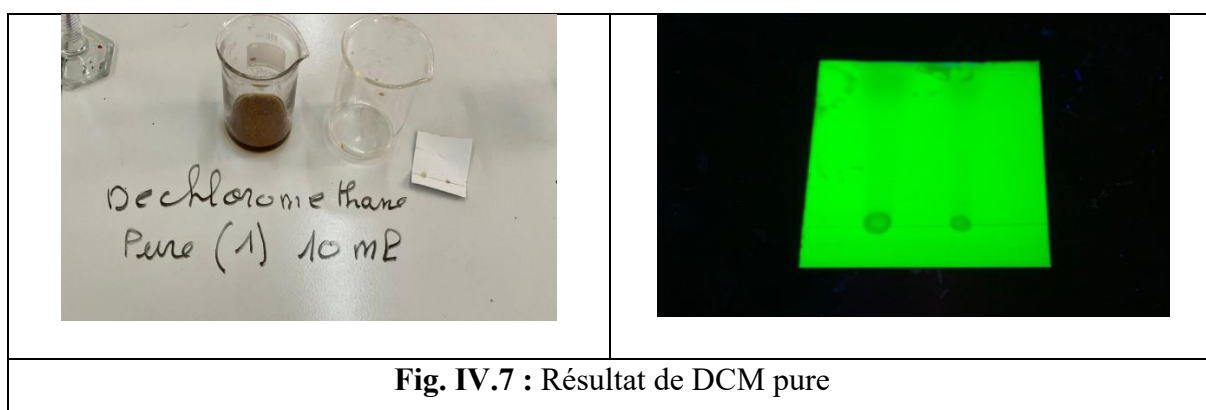
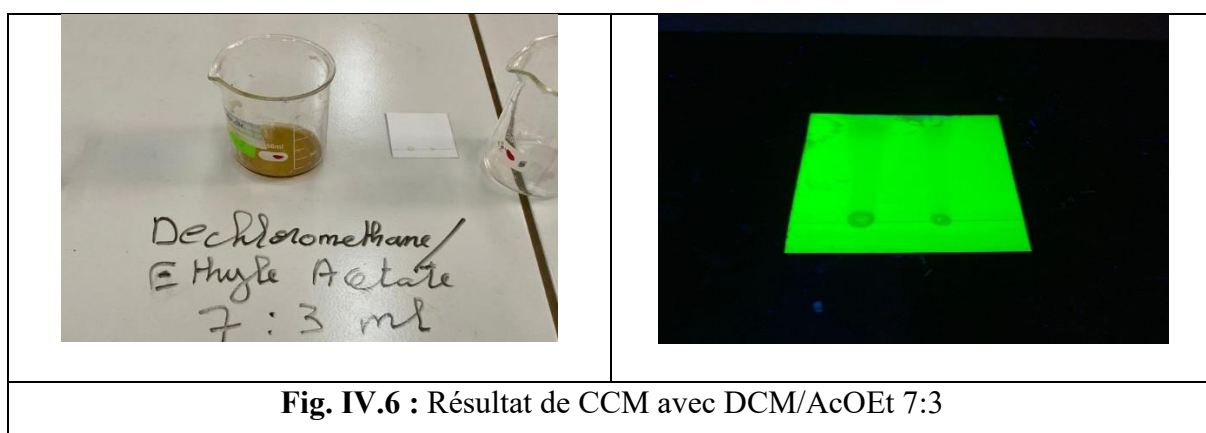
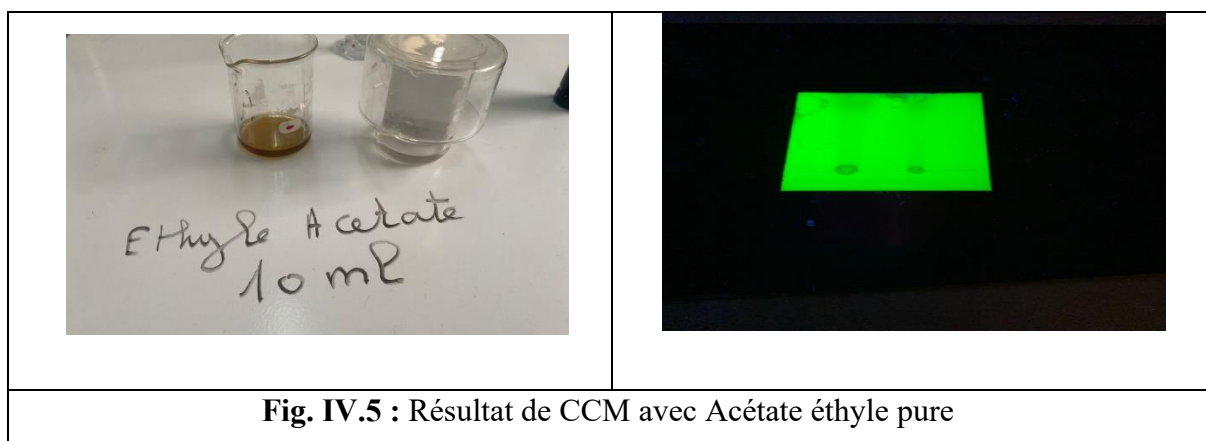
L'élution de la colonne a révélé une séparation progressive et visible des constituants du goudron noir. Les premières fractions éluées avec le DCM pur (F1) présentent une couleur jaune pâle, indicatrice de composés peu polaires et faiblement retenus par la silice. La fraction (F2) DCM/AcOEt (7:3) de couleur jaune-orangée, constitue la fraction principale en termes de volume et d'intensité colorimétrique, suggérant la présence de composés phénoliques en grande quantité. Les fractions F3 et F4 montrent une couleur brun foncé à très foncé, caractéristique de composés aromatiques polycycliques et de tanins très polaires, fortement retenus par la phase stationnaire. Les fractions F5 et F6, éluées avec le système hexane/ AcOEt, sont de faible intensité, témoignant d'une fraction apolaire.

La chromatographie sur colonne du goudron noir de Genévrier et de Pin a permis d'obtenir six fractions distinctes, caractérisées par des profils de polarité croissante. La fraction

principale (F2, DCM/AcOEt 7:3) est riche en composés phénoliques issus de la dégradation de la lignine, confirmant la nature essentiellement polaire et phénolique du goudron noir végétal.

IV.6 chromatographies sur couche mince (CCM)

La chromatographie sur couche mince (CCM) a été utilisée comme technique analytique complémentaire à la chromatographie sur colonne, afin de contrôler la pureté des fractions obtenues et d'évaluer qualitativement la composition du goudron noir. La phase stationnaire utilisée est la silice (plaques CCM aluminium silice 60 F₂₅₄). La révélation des taches a été réalisée sous lampe UV à 254 nm et 365 nm (figure IV.5, IV.6 et IV.7).



L'apparition de plusieurs taches avec des valeurs de Rapport Frontal R_f différentes (figure IV.5, IV.6 et IV.7) montre que le goudron noir n'est pas une substance pure mais un mélange complexe de composés organiques.

- Les taches présentant des faibles valeurs de R_f ($\approx 0,30$) correspondent à des composés plus polaires [25] ayant une forte interaction avec la silice.
- Les taches présentant des valeurs de R_f intermédiaires ($\approx 0,54$) indiquent la présence de composés de polarité moyenne [25].
- Les taches ayant des valeurs de R_f élevées ($\approx 0,80$) correspondent à des composés moins polaires [25] qui migrent davantage avec l'éluant.

Ces résultats confirment que le goudron noir issu de la pyrolyse du genévrier et du pin contient plusieurs familles chimiques, notamment des composés phénoliques, aromatiques et résineux. La diversité des taches observées traduit la complexité de sa composition chimique, ce qui est cohérent avec la nature du goudron végétal obtenu par distillation sèche du bois.

La CCM a ainsi permis de vérifier l'hétérogénéité du goudron noir et de guider les étapes ultérieures de séparation et de purification par chromatographie sur colonne.

IV.7 Caractérisation des goudrons noir

IV.7.1 Spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie FTIR est l'une des méthodes les plus utilisées pour déterminer la composition chimique et élucider la structure des composés. Grâce à ses caractéristiques spectrales spécifiques et à sa large applicabilité aux échantillons, la FTIR est devenue un outil essentiel en analyse pharmaceutique ces dernières années [26].

Les spectres FTIR dans la région infrarouge moyenne de 4000 à 400 cm^{-1} des goudrons noirs des deux espèces sont présentés dans la figure IV.8 et IV.9 de la présente étude.

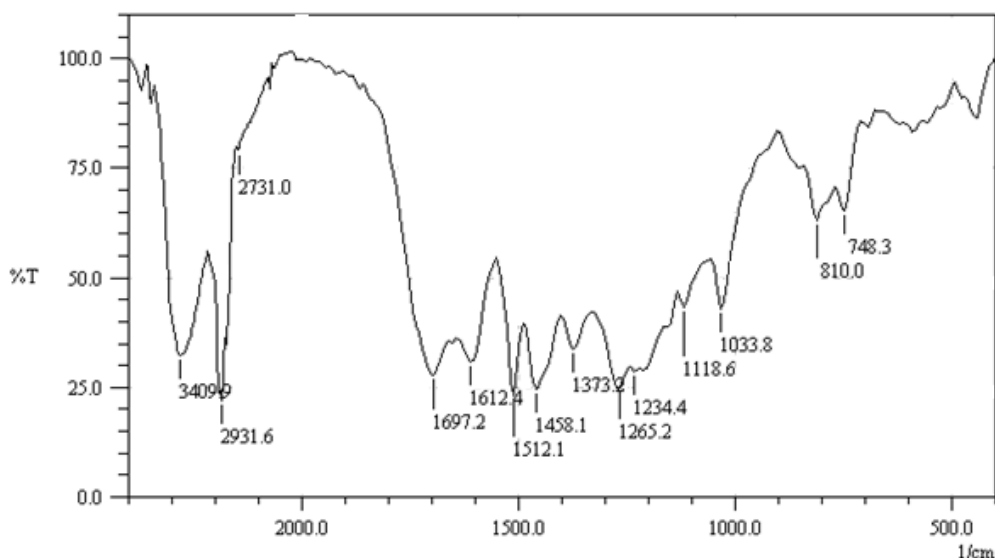


Fig. IV.8 : IRTF de goudron noir de *Juniperus thurifera* L.

Le spectre IRTF du goudron noir obtenu à partir de *Juniperus thurifera* (Figure IV.8) présente plusieurs bandes caractéristiques correspondant aux différents groupements fonctionnels présents dans la matrice organique du goudron. La large bande observée à **3409.9 cm^{-1}** est attribuée aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (O–H), caractéristiques des alcools et des composés phénoliques [27]. Cette bande indique la présence importante de composés oxygénés issus principalement de la dégradation de la lignine. La présence importante de la bande O–H traduit une forte proportion de composés phénoliques dérivés de la dégradation thermique de la lignine. Ces composés sont généralement responsables des propriétés biologiques des goudrons végétaux, notamment leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes.

Le pic observé à **2931.6 cm^{-1}** correspond aux vibrations d'élongation des liaisons C–H des groupes méthylène ($-\text{CH}_2$) et méthyle ($-\text{CH}_3$), révélant la présence de composés aliphatiques et hydrocarbonés.

Le signal intense enregistré à **1697.2 cm^{-1}** est attribué aux vibrations d'élongation des fonctions carbonyles (C=O), caractéristiques des aldéhydes, cétones et acides carboxyliques [28]. Les bandes observées à **1612.4 cm^{-1}** et **1512.1 cm^{-1}** correspondent aux vibrations des doubles liaisons aromatiques (C=C), indiquant la présence de structures aromatiques condensées. L'apparition de ces bandes aromatiques confirme la contribution importante de la lignine dans la formation du goudron. En effet, la lignine constitue le composant végétal le plus riche en structures aromatiques et sa dégradation conduit à la formation de composés phénoliques condensés.

Cependant, le pic situé à **1458.1 cm⁻¹** est attribué aux vibrations de déformation des groupes méthyle et méthylène. Dans la région comprise entre **1373.2 et 1033.8 cm⁻¹**, les bandes observées à **1373.2, 1265.2, 1234.4, 1118.6 et 1033.8 cm⁻¹** sont associées aux vibrations des liaisons C–O et C–O–C, caractéristiques des fonctions éther, alcool et composés phénoliques méthoxylés [29]. La présence simultanée de ces fonctions carbonyles (C=O) et éthers (C–O–C) montre que le processus de pyrolyse conduit également à la formation de composés oxygénés secondaires issus des réactions de dépolymérisation et de réorganisation thermique.

Enfin, les bandes observées à **810 cm⁻¹** et **748.3 cm⁻¹** correspondent aux vibrations hors plan des liaisons C–H aromatiques. Par ailleurs, les bandes observées dans la région inférieure à **1000 cm⁻¹** confirment le caractère aromatique substitué du goudron obtenu. Ces résultats obtenus montrent que le goudron issu de *Juniperus thurifera* possède une composition chimique complexe dominée par des composés phénoliques, aromatiques et oxygénés.

Le spectre IRTF du goudron noir obtenu à partir de *Pinus halepensis* (Figure IV.9) met en évidence plusieurs bandes caractéristiques des composés organiques présents dans le goudron noir.

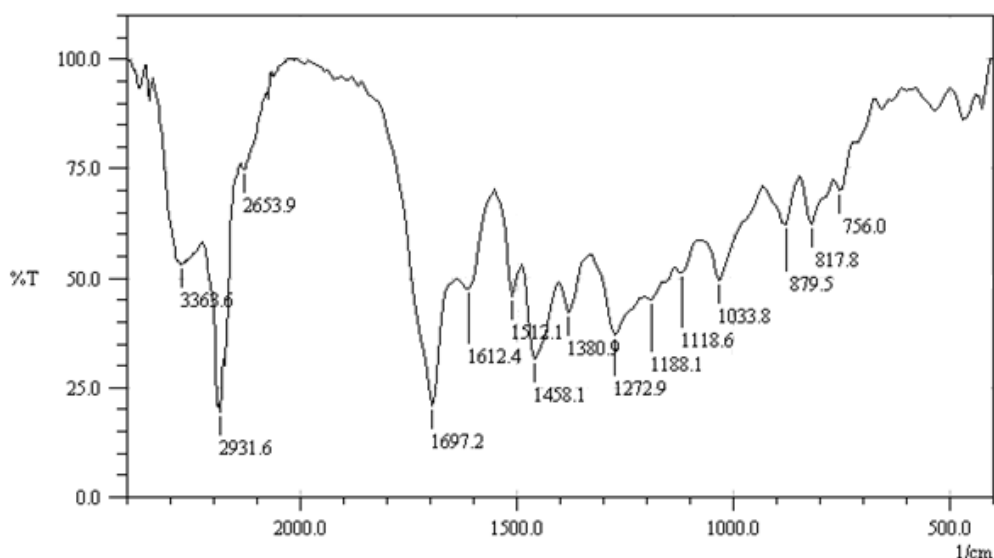


Fig. IV.9 : IRTF de goudron noir de *Pinus halepensis* Mill

La large bande observée à **3368.6 cm⁻¹** est attribuée aux vibrations d'élongation des groupements hydroxyles (O–H), indiquant la présence de composés phénoliques et alcooliques [27]. La présence de la bande O–H montre que le goudron contient une quantité importante de composés phénoliques provenant principalement de la dégradation de la lignine. Cependant, le pic observé à **2931.6 cm⁻¹** correspond aux vibrations des liaisons C–H aliphatiques des groupes méthyle et méthylène. Ce pic observé présente un intérêt particulier puisque *Pinus halepensis*

est une espèce riche en résines et composés terpéniques. Ainsi, cette bande peut être associée à la présence de dérivés hydrocarbonés issus des fractions résineuses du pin. La bande située à **2653.9 cm⁻¹** est attribuée aux composés carbonylés et aux fonctions acides produites pendant la pyrolyse. Parallèlement, le signal intense observé à **1697.2 cm⁻¹** est associé aux vibrations des fonctions carbonyles (C=O) [29].

Les bandes enregistrées à **1612.4 cm⁻¹** et **1512.1 cm⁻¹** correspondent aux vibrations des structures aromatiques (C=C). Ces bandes aromatiques observées confirment la formation de structures aromatiques condensées après la pyrolyse du matériau lignocellulosique.

Dans la région comprise entre **1380.9 et 1033.8 cm⁻¹**, les bandes observées à **1380.9, 1272.9, 1188.1, 1118.6 et 1033.8 cm⁻¹** sont attribuées aux vibrations des liaisons C–O et C–O–C. La présence de ces bandes indique également la formation de composés oxygénés secondaires tels que les éthers et les dérivés méthoxylés [30]. Enfin, les bandes observées à **879.5 cm⁻¹, 817.8 cm⁻¹ et 756 cm⁻¹** sont associées aux vibrations hors plan des liaisons C–H aromatiques. Enfin, ces bandes mettent en évidence la présence de noyaux aromatiques substitués et confirment le caractère aromatique du goudron obtenu. Généralement, le spectre du goudron issu de *Pinus halepensis* révèle une composition dominée par des composés aromatiques, oxygénés et résineux.

La comparaison des deux spectres montre que les deux goudrons possèdent des fonctions chimiques similaires : **O–H, C–H, C=O, C=C aromatique et C–O**, ce qui confirme leur origine lignocellulosique commune. Cependant, le goudron de *Juniperus thurifera* présente une proportion plus importante de composés phénoliques oxygénés, tandis que celui de *Pinus halepensis* semble davantage influencé par les composés résineux et terpéniques caractéristiques des espèces du genre *Pinus*.

IV.7.2 Analyse Rhéologique des goudrons noir

Les propriétés rhéologiques des hydrogels synthétisés ont été analysées à l'aide d'un rhéomètre oscillatoire dynamique Discovery (Hybrid HR-2). Les mesures ont été réalisées à l'aide de plaques parallèles (plaque Peltier, Steel, 100261) d'un diamètre de 40 mm et d'un écartement de 1 mm. Les expériences ont été réalisées à une température constante de 25 °C, sur une plage de fréquences comprise entre 0,1 et 100 rad/s, avec une déformation de 1 %. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure 17.

La figure IV.10.a représente l'évolution de la viscosité dynamique η (en Pa·s) en fonction de la fréquence angulaire (en rad/s) des goudrons noirs des deux espèces *Juniperus thurifera* L. (V1) et *Pinus halepensis* Mill (V2). On remarque qu'à basse fréquence ($\omega < 1$ rad/s)

les deux échantillons présentent un comportement **rhéofluidifiant** où la viscosité diminue avec l'augmentation de la fréquence.

À moyenne et haute fréquence (de 1 à 100 rad/s) la viscosité se stabilise pour atteindre un **plateau newtonien** ($\eta = 0.7 \text{ Pa}\cdot\text{s}$). Cela indique une structure moléculaire relativement simple ou faiblement associative, qui s'oriente facilement sous l'effet du cisaillement, sans opposer une résistance élastique majeure à haute fréquence.

À titre de comparaison, on remarque que l'échantillon **V2** présente une viscosité nettement plus élevée à basse fréquence, ce qui traduit que cet échantillon a une structure beaucoup plus dense, visqueuse ou un réseau moléculaire (potentiellement dû à une plus forte concentration en composés lourds, phénoliques ou résineux selon la plante d'origine).

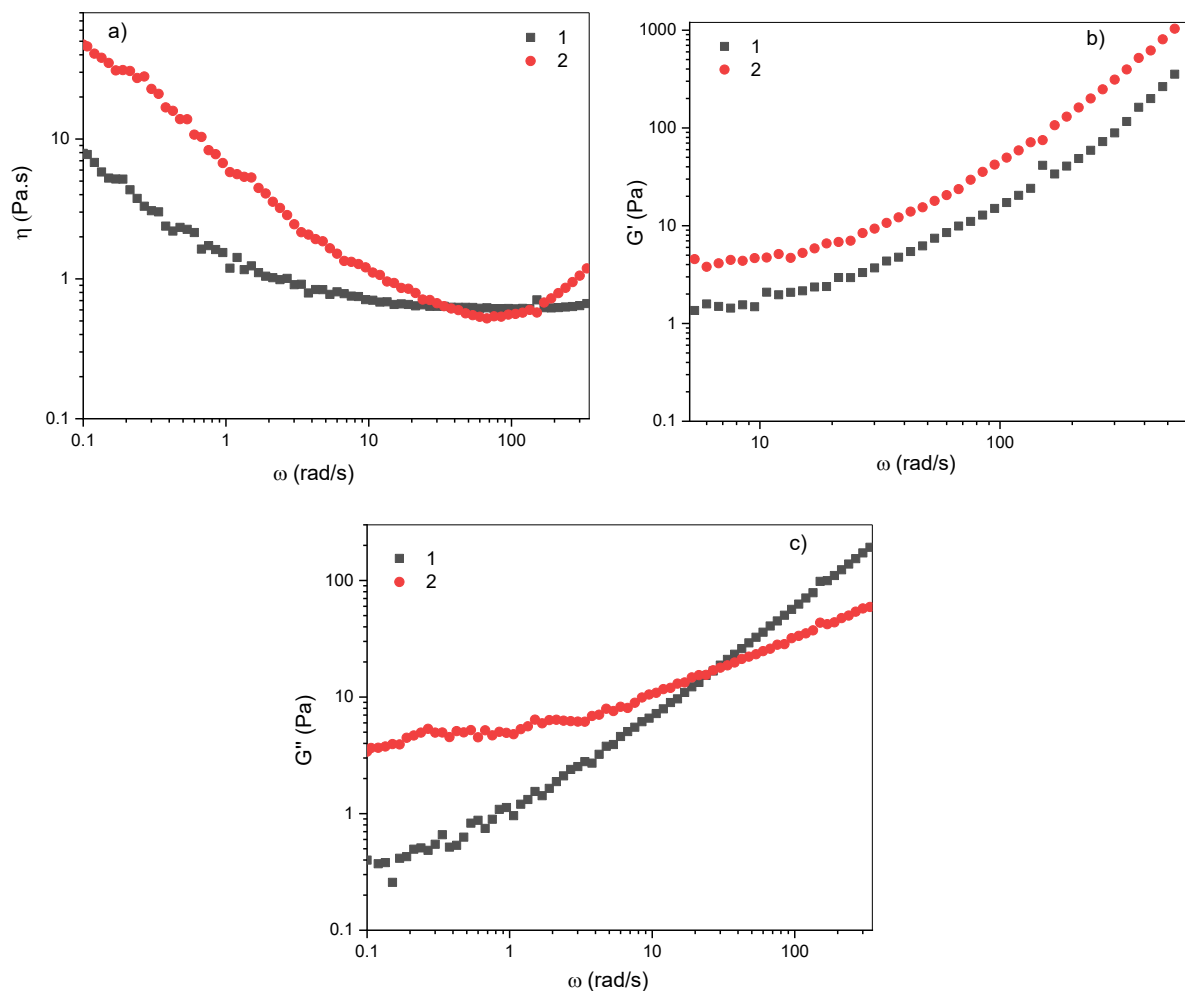


Fig. IV.10 : Viscosité complexe (a), module de stockage G' (b) et module de perte G'' (c) en fonction de la fréquence angulaire pour les goudrons de bois 1 et 2, mesurés à 25 °C sur une plage de fréquences comprise entre 0,1 et 100 rad/s, avec une déformation de 1 %.

À des fréquences plus élevées on observe une légère remontée de la courbe de l'échantillon V2 (comportement rhéoépaississant ou *shear-thickening*). Ce résultat indique que, les molécules ou microparticules du goudron V2 tendent à s'agglomérer ou à s'enchevêtrer, provoquant une résistance accrue à l'écoulement.

La figure IV.10.b montre l'évolution du module de stockage ou de conservation en fonction de la fréquence de cisaillement G' caractérisant la **composante élastique** (l'énergie stockée par le matériau et restituée après déformation). Pour les deux échantillons, G' augmente de façon monotone avec la fréquence, ce qui est typique des fluides polymères ou des suspensions complexes. Le goudron V2 possède un module G' systématiquement supérieur à celui du goudron V1 sur l'ensemble de la gamme des fréquences. Cela confirme que la matrice du goudron V2 est plus rigide et possède une élasticité structurale plus forte que le goudron V1. Le module de perte G'' représenté sur la figure IV.10.c caractérise la **composante visqueuse** (l'énergie dissipée sous forme de chaleur lors de la déformation). L'analyse croisée de G' et G'' permet de définir la nature physique des goudrons. Pour le **goudron V1**, à basse fréquence, G'' (autour de 0.4 Pa) est inférieur à G' (autour de 1.5 Pa). Le matériau se comporte initialement comme un gel très faible. Cependant, la pente de G'' est très raide. Vers ($\omega = 20$ rad/s), on observe un **point de croisement (crossover)** où G'' devient supérieur à G' . À haute fréquence, le comportement visqueux l'emporte nettement sur l'élastique ($G'' \gg G'$). C'est le comportement signature d'un **fluide viscoélastique**. Pour le **goudron V2** la courbe de G'' reste relativement plate et stable à basse et moyenne fréquence (3 à 10 Pa).

Si l'on compare les deux graphiques (b et c) pour l'échantillon 2, à basse fréquence ($\omega = 10$ rad/s), $G' = 4$ Pa et $G'' = 5$ Pa. Les deux modules sont très proches. À haute fréquence ($\omega > 100$ rad/s), G' augmente drastiquement jusqu'à environ 500 Pa alors que G'' ne dépasse pas 50 Pa. On a donc $G' \gg G''$. Cela signifie qu'à haute fréquence, le **goudron V2** subit une transition vers un état hautement élastique/gel. Cela corrèle parfaitement avec la remontée de viscosité observée sur la figure IV.17.a.

❖ **Conclusion possible**

La plante ayant servi à produire le **goudron V2** génère un goudron riche en composés de forte masse moléculaire ou en entités fortement interactives (comme des groupements polaires capables de créer des liaisons hydrogène ou des interactions π - π). Sous l'effet d'une sollicitation rapide (ω élevé), ces interactions se renforcent, rendant le milieu très élastique. À l'inverse, le **goudron V1** provient d'une biomasse donnant des molécules plus légères ou moins associatives, agissant comme un fluide viscoélastique standard qui s'écoule facilement dès que la fréquence augmente.

Références bibliographiques

- [1]. Murat, K., Goksel, K., Murat, Y., Çetin, A. (2002). Antimicrobial activity of the tar obtained from the roots and stems of *Pinus brutia*. *Pharmaceut. Biol.* 40 (2), 135-138.
- [2]. Baimark, Y., Niamsaa, N. (2009). Study on wood vinegars for use as coagulating and antifungal agents on the production of natural rubber sheets, *Biomass Bioenergy* 33, 994–998.
- [3]. Falleh, H., Kousri, R., Chaieb, K., Karray- Boutaoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M., Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. Organs, and their biological activities .*C.R.Biologies.* 331 :379.
- [4]. Yap, P.S.X., Krishnan T., Chan K. G., Lim S.H.E. (2015). Antibacterial mode of action of *Cinnamomum verum* bark essential oil, alone and in combination with piperacillin, against a multi-drugresistant *Escherichia coli* strain. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25(8), 1299-1306.
- [5]. Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P.J., Nychas, G.J. (2001). A study the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil , thymol and carvacrol. *Journal of applied microbiology*, 91(3),453-426.
- [6]. Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(4), 564-582.
- [7]. Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, M., Sokmen, A., Polissiou, M. (2005). In vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia fruticosa* (L.) and *Origanum syriacum* L. *Food Chemistry*, 90(1-2), 165-171.
- [8]. Vatter, D. A., Shetty, K. (2005). Biological functionality of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) as an antioxidant and antimicrobial agent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3020-3027.
- [9]. Górniak, I., Bartoszewski, R., Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241-272.
- [10]. Rhayour, K., Bouchikh, T., Tantaoui-Elaraki, A., Sendide, K., Remmal, A. (2003). The mechanism of bactericidal action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. *Journal of Essential Oil Research*, 15(4), 286-292.
- [11]. Cvetanović, A., Švarc-Gajić, J., Zeković, Z., Savić, S., Vulić, J., Mašković, P., Četković, G. (2015). Comparative analysis of antioxidant, antimicrobiological and cytotoxic activities of native and fermented chamomile ligulate flower extracts. *Planta*, 242(3), 721.

- [12]. Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D. Et Manresa, A., Zhiri, A. (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action.
- [13]. Basli, A., Chibane, M., Madani, K. et Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum glandulosum* Desf. *Phytothérapie*. 10 :9.
- [14]. Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R.P., Chang, C.M. Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*. 2022 Feb 16; 27 (4): 1326.
- [15]. Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., Sameenoi, Y. Paper-based DPPH Assay for Antioxidant Activity Analysis. *Anal Sci*. 2018; 34 (7): 795-800.
- [16]. Luo, Q., Peng, X., Bai, S., Zhang, S., Qian, Z. (2019). Characterization of polyphenols and their contribution to the antioxidant capacity of pomegranate seed. *Journal of Food Science and Technology*, 56(8), 3694-3704.
- [17]. Turkmen, N., Sari, F., Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food chemistry*, 93(4), 713-718.
- [18]. Guignard, J.L., Cossen, L., Henry, M. (1999). *Abrégé de Phytochimie*, Ed. Masson, Paris: 319.
- [19]. Hodzic, Z., Pasalic, H., Memisevic, A., Srabovic, M., Saletovic, M., Poljakovic M. (2009). The Influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts. *Scientific research*. 28 (3),471-477.
- [20]. Jayaprakasha, G.K. Patil, B.S. (2007). In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit Extracts from citron and blood orange. *Food chemistry*. 101 :418.
- [21]. Agbor, G.A., Kuate, D., Oben, J.E. (2007). Medicinal plants can be good source of antioxidants: 2006). A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry* (97) :711.
- [22]. Reichardt, C., Welton, T. (2011). *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry* (4th ed.). Wiley-VCH.
- [23]. Oasmaa, A., Czernik, S. (1999). Fuel Oil Quality of Biomass Pyrolysis Oils—State of the Art for the End Users. *Energy & Fuels*, 13(4), 914–921.
- [24]. James, G.S. (2015). *Handbook of Coal Analysis* (2nd ed.). Wiley.
- [25]. Joseph, S., Bernard, F. (2003). *Handbook of Thin-Layer Chromatography* (3rd ed.). Marcel Dekker.

- [26]. Vlachos, N., Skopelitis, Y., Psaroudaki, M., Konstantinidou, V., Chatzilazarou, A., Tegou, E. (2006). Application of fourier transform infrared Spectroscopy to edible oils. *Anal. Chim. Acta.* 28 (573-574): 459-465.
- [27]. Capar, T.D. (2023). Characterization of sodium alginate-based biodegradable edible film incorporated with *Vitis vinifera* leaf extract: Nano-scaled by ultrasound-assisted technology. *Food Packag. Shelf Life.* 37, 101068.
- [28]. Rohman, A., Che Man, Y.B. (2010). *Food Res. Int.* 43, 886–892.
- [29]. Smith, B.C. (1999). *Infrared Spectral Interpretation, A systematic approach*, CRC Press.
- [30]. Zawadzki, J. (1989). Infrared spectroscopy in surface chemistry of carbons. In: Thrower, PA. Ed., *chemistry and physic of carbon*, Marcel Dekker, New York 21: 147-386.

Conclusión

Générale

Conclusion générale

Ce travail avait pour objectif principal l'étude et la caractérisation des goudrons noirs issus via la pyrolyse traditionnelle des deux espèces forestières Algérien : *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill.

Malgré un usage ancestral bien établi en médecine traditionnelle, la composition chimique de ces goudrons restait partiellement méconnue et leur valorisation scientifique insuffisante. Ce travail a permis de combler en partie cette lacune en mobilisant un ensemble de techniques analytiques complémentaires.

Les résultats obtenus permettent de tirer les conclusions suivantes :

- **Sur le plan chimique**, les deux goudrons constituent des mélanges organiques complexes à dominante phénolique et aromatique, issus principalement de la dégradation thermique de la lignine. La spectroscopie FTIR a confirmé la présence de groupements O–H, C=O, C=C aromatiques et C–O–C dans les deux échantillons. Le goudron de *Juniperus thurifera* L. est plus riche en composés phénoliques oxygénés, tandis que celui de *Pinus halepensis* Mill. est davantage influencé par les composés résineux et terpéniques caractéristiques du genre *Pinus*.
- **Sur le plan chromatographique**, la CCM et la chromatographie sur colonne a confirmé la complexité et l'hétérogénéité des deux goudrons, avec plusieurs familles de composés de polarités différentes. La fraction principale (DCM/AcOEt 7:3) s'est révélée riche en composés phénoliques.
- **Sur le plan biologique**, les deux goudrons ont démontré des activités antimicrobienne et antioxydante prometteuses. Le goudron de *Juniperus thurifera* L. s'est montré le plus actif, avec une zone d'inhibition atteignant 28 mm contre *Staphylococcus aureus*, dépassant même l'antibiotique de référence (Gentamicine, 24 mm). Cette activité est attribuée à la présence de composés phénoliques, tanins et flavonoïdes capables de perturber les membranes bactériennes. En ce qui concerne l'activité antioxydante, les deux goudrons présentent une capacité de piégeage du radical DPPH appréciable, avec respectivement 45,80 % pour *J. thurifera* L. et 40,87 % pour *P. halepensis* Mill., corrélée à leur teneur en polyphénols.

- **Sur le plan Rhéologique**, les deux goudrons présentent un comportement viscoélastique différencié. Le goudron de *P. halepensis* Mill. se distingue par une viscosité et une élasticité plus élevée, traduisant une composition en molécules de plus forte masse moléculaire ou en entités plus fortement interactives.

En définitive, ces résultats confirment le potentiel pharmacologique et biologique des goudrons de *Juniperus thurifera* L. et *Pinus halepensis* Mill et justifient des recherches supplémentaires pour isoler et identifier les composés bioactifs responsables des activités observées. Des études complémentaires portant sur les mécanismes d'action, la toxicité et les formulations thérapeutiques permettraient d'envisager le développement de nouvelles thérapies naturelles issues de ces ressources locales encore sous-exploitées.