



Université Sidi Mohamed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et Techniques
Département de Biologie



Mémoire de fin d'étude

Pour obtenir

Le diplôme de Master Sciences et Techniques

Spécialité : Gestion & Conservation de la Biodiversité

EXTRACTION ET CARACTERISATION DE LA COMPOSITION DES HUILES ESSENTIELLES DE *Juniperus phoenicea* & *Juniperus oxycedrus* Du Moyen Atlas

Préparé par l'étudiant : Mohammed JAMALEDDINE

Encadré par : - Mr. Elhoussine DERWICH

- Mr. Khalid AMRANI JOUTEI

Soutenu le 25 Juin 2010 devant le jury composé de :

Mr. Elhoussine DERWICH	Encadrant (CURI-Fès)
Mr. Khalid AMRANI JOUTEI	Encadrant (FST-Fès)
Mr. Abdellatif ABDELLAOUI	Examineur (FSDM-Fès)
Mme. Rachida CHABIR	Examineur (FMP-Fès)
Mme. Hakima SQUALI HOUSSAINI	Examineur (FST-Fès)
Mr. Khalid DERRAZ	Examineur (FST-Fès)



REMERCIEMENTS

Il est impossible d'énumérer toutes les personnes de près ou de loin, qui n'ont cessé de témoigner leur soutien moral ou matériel à mon égard. Je les remercie donc infiniment.

Tout d'abord je remercie professeur **Abdellatif DAKIR** directeur du Centre Universitaire Régional de l'Interface, je vous prie Monsieur de vouloir agréer l'expression de mes remerciements les plus distingués. Vous m'avez fait l'honneur d'avoir accordé mon stage au sein du centre.

Je remercie sincèrement Dr. **Elhoussine DERWICH** responsable d'unité d'analyses GC/MS et GC au Centre Universitaire Régional de l'Interface (CURI) Fès pour l'encadrement de ce travail, la supervision ainsi que la patience qu'il a montrée lors de la réalisation de ce travail. Ses compétences, ses précieux conseils, sa disponibilité et sa gentillesse à mon égard ont contribué au bon déroulement de cette étude. J'ai trouvé en lui un encadrant toujours disponible. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.

Je remercie également **Mr. Khalid AMRANI JOUTEI** Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques Fès d'avoir accepté d'encadrer ce travail, aussi pour sa compréhension et son aide et ses conseils constructifs, je lui exprime ma profonde gratitude et ma respectueuse reconnaissance.

Mes sincères remerciements s'adressent également au **Mr. Abdellatif ABDELLAOUI** Professeur à la Faculté des Sciences Dhar Mahrez, Que j'ai eu sa disponibilité, son écoute, ses conseils et sa gentillesse pendant la réalisation de l'extraction des huiles essentielles au sein du laboratoire de physiologie pharmacologie et santé environnementale.

J'aimerais aussi bien exprimer ma très grande gratitude et mes remerciements à **Mme. Rachida CHABIR** Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie Fès pour son aide dans l'identification des espèces étudiées.

Je présente aussi ma profonde gratitude et ma respectueuse reconnaissance à **Mr. Khalid DERRAZ, Mme. Hakima SQUALI HOUSSAINI**, Professeurs à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, je suis très sensible à l'honneur que me font en acceptant de juger ce travail.

Je remercie également **Mr Tijani AMIRI** pour son soutien, son aide et ses conseils pendant la période qu'on a passée dans le Laboratoire des Sciences et des Technologies du Génie des Procédés à la EST-Fès.

Je ne peux oublier d'adresser mes remerciements à tous mes enseignants du Master Gestion & Conservation de la Biodiversité, je ne saurais passer sous silence, la collaboration franche de **Mr. Lahsen ELGHADRAOUI**, j'ai beaucoup appris avec lui pendant ces deux ans de formation de Master, je lui exprime toute ma gratitude.

Je tiens à remercier mon Coéquipier **Brice BIYOO BI MBENG** pour les bons moments qu'on a passé ensemble au cours de toute la période de stage.

Dédicace

A celui qui m'a indiqué la bonne voie en me rappelant que la volonté fait toujours les grands hommes,...

A mon Père

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation,...

A ma Mère

Sachez que je vous aime profondément et que je vous suis très reconnaissant pour votre patience, vos efforts, vos conseils et toutes les souffrances que vous avez endurées. Soyez infiniment remerciés et que Dieu vous accorde une longue et heureuse vie.

*Mes frères **Abdelaziz, Adil, Anass, Marouane**, et mon petit frère **Amine** et tout le reste de la **famille** : je vous remercie tous pour votre soutien durant toutes mes années d'études. Chaque jour je remercie Dieu de m'avoir donnée une famille aussi solidaire. Prenons à jamais le même chemin et tous unis, nous vaincrons toujours. Une marque spéciale à **Ibtissam**, les mots me manquent pour exprimer ce que tu représentes pour moi. Je ne saurais trouver ces mots alors je te dirai tous simplement, merci pour tout et que Dieu nous garde toujours unis, car c'est ainsi que nous serons plus forts.*

A mes très chères amis je vous dédie ce travail en témoignage de ma grande affection et en souvenir des agréables moments passés ensemble.

A tous mes chères amis de Master Gestion & conservation de la Biodiversité

A tous mes enseignants, depuis mes premières années d'études

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis citer

LISTE DES ABBREVIATIONS

HE: Huile essentielle

C₁₀: composé à 10 atomes de carbone

AFNOR : Association Française de Normalisation

FSDM: Faculté des Sciences Dhar Mahrez Fès

H (%): Taux d'humidité

Rdt (%): Rendement en huiles essentielles

GC/MS: Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

TR: Temps de rétention

JPF: Feuilles de *Juniperus phoenicea*

JOF: Feuilles de *Juniperus oxycedrus*

LISTES DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Les principaux éléments biochimiques des huiles essentielle (HE) avec leurs caractéristiques et les plantes contenant ces éléments.

Tableau 2: les différents résultats obtenus

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Juniperus phoenicea*

Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Juniperus oxycedrus*

Tableau 5: Récapitulatif de la comparaison de la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Juniperus phoenicea* et de *Juniperus oxycedrus*

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Système d'hydrodistillation (FSDM-FES)

Figure 2: Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS) (CURI- Fès)

Figure 3: Chromatogramme de *Juniperus phoenicea*

Figure 4: Chromatogramme de *Juniperus oxycedrus*

Figure 5 : Structures de quelques composés identifiés dans les huiles essentielles des deux plantes étudiées

Figure. 6 : Schéma d'un injecteur splitless

Figure. 7 : Schéma d'un appareil de couplage GC / MS

RESUME

Les extraits naturels issus des plantes médicinales et aromatiques possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir médecine, pharmacie et cosmétologie.

Ce travail, à pour objectif, la détermination du rendement et l'identification des molécules bioactives des huiles essentielles des feuilles séchées de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* de la région de Tazouta (région de Fès Boulmane), Maroc. Ces huiles essentielles ont été extraites par la méthode d'hydrodistillation et la composition chimique a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS). Les feuilles de *Juniperus phoenicea* ont fourni un rendement de 0,8 % en huiles essentielles avec 48 constituants identifiés, représentant 91,04% du total d'huile. Les composés majoritaires sont: Terpinyl formate avec un taux de (4,28 %), Pulegone (3,79%), γ -Amorphane (3,78 %), Farnesyl bromide (3,49 %), Germanicol (3,49 %) Borneol (3,49 %), 1,8-Cineole (3,37 %) et α -pinene (3,37 %). 43 constituants ont été identifiés au niveau des huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus oxycedrus* représentant 91,93 du total avec un rendement de 0,4 %. Les composés majoritaires sont: Farnésène (12,27 %), autres composés sont présents à des teneurs moins importantes: Borneol (5,75 %), Peperitone oxide (3,66 %), et Phyllocladène (3,64 %).

Mots clés: *Juniperus phoenicea*, *Juniperus oxycedrus*, huiles essentielles. GC/MS

SOMMAIRES

Introduction générale.....	12
----------------------------	----

CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I- Les plantes aromatiques et médicinales.....	15
I-1- Historique.....	15
I-2- Importance des plantes médicinales et aromatiques dans les pays du Maghreb.....	16
I-3- Répertoire des familles botaniques des plantes aromatiques.....	17
II- Les huiles essentielles.....	18
II-1- Définition et localisation.....	18
II-2- Composition chimique des huiles essentielles.....	19
II-3- Facteurs influençant la composition chimique.....	21
II-4- Propriétés physico-chimiques.....	21
II-5- Rôle physiologique.....	21
II-6- Rôle écologique et activités biologiques.....	22
II-7- La biochimie des huiles essentielles.....	23
II-8- Utilité économique.....	26
II-9- Toxicité.....	27
II-10- Méthodes d'extractions des huiles essentielles.....	27
1- Hydrodistillation.....	27
2- Vapo-hydrodistillation.....	28
3- Distillation à la vapeur directe.....	28
4- Autres méthodes.....	28

4-1- L'expression au solvant volatil.....	28
4-2- L'expression.....	29
4-3- L'enfleurage.....	30
4-5- L'extraction au CO ₂ supercritique.....	31
4-6- La distillation fractionnée.....	31
III- Les plantes étudiées.....	31
III-1- <i>Juniperus phoenicea</i>	32
1- Taxonomie.....	32
2- Description botanique.....	32
3- Répartition géographique.....	32
4- Utilisation traditionnelle.....	33
5- Rendement et activités biologiques.....	33
III-2- <i>Juniperus oxycedrus</i>	33
1- Taxonomie.....	33
2- Description botanique.....	34
3- Distribution géographique.....	34
4- Utilisation traditionnelle.....	34
5- Rendement et activités biologiques.....	34
IV- Les techniques instrumentales d'analyses des huiles essentielles (GC/MS).....	35
IV-1- Chromatographie en phase gazeuse (GC).....	35
1- L'injecteur.....	35
2- Le four et la colonne capillaire.....	36
IV-2- Le spectromètre de masse.....	36

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

I-	Matériel végétal.....	39
II-	Extraction des huiles des essentielles.....	39
II-1-	Détermination du taux d'humidité.....	40
II-2-	Détermination du rendement en huiles essentielle.....	41
III-	Méthodes d'analyses chromatographiques des huiles essentielles.....	41

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I-	Présentation des résultats.....	44
I-1-	Calcul du taux d'humidité.....	44
I-2-	Détermination du rendement en huiles essentielles.....	44
I-3-	Composition chimique des huiles essentielles.....	44
1-	Composition chimique d'huile essentielle de <i>Juniperus phoenicea</i>	44
2-	Composition chimique d'huile essentielle de <i>Juniperus oxycedrus</i>	47
II-	Discussions.....	50
II-1-	Rendement en huiles essentielles.....	50
II-2-	Composition chimique des huiles essentielles.....	51
II-3-	Etude comparative entre <i>Juniperus phoenicea</i> et <i>Juniperus oxycedrus</i>	52
	CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	53
	ANNEXES.....	54
	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	56

Introduction générale

Depuis quelques années, les plantes médicinales suscitent, dans le monde entier, un intérêt nouveau et persistant, n'ayant d'égal en importance que l'inquiétude née dans la conscience universel du fait des excès de la civilisation industrielle contemporaine. Les diverses attitudes de retour à la phytothérapie se sont donc posées, au départ dans les sociétés économiquement avancées, comme solution de rechange à la pharmacologie moléculaire et à l'état de surmédicalisation des populations. Se plaçant dans la foulée des grandes idées écologiques du siècle, elles bénéficièrent, du coup, du prestige de celle-ci et de l'attrait exercé de nos jours par toutes choses paraissant naturelles ou anciennes, non compromises par conséquent dans les graves problèmes de notre époque.

Depuis deux décennies environ, chaque année, des milliers de plantes utilisées localement par les tradipraticiens arrivent de toutes les régions du monde pour être analysées et testées dans les laboratoires des universités et dans les grandes sociétés pharmaceutiques. Certains tests, qui sont réalisés presque systématiquement et en aveugle, comme le dépistage des activités antitumorales, antibactériennes, antivirales et cardiovasculaires, ou de manière plus ponctuelle comme, par exemple, la recherche de propriétés sédatives dans une plante réputée posséder ces propriétés, ont conduit à la sélection d'une centaine d'espèces végétales utilisées depuis avec succès en thérapeutique. C'est alors qu'on s'est rendu compte que beaucoup de ces produits étaient utilisés dans leur pays d'origine avec des indications très proches de celles qui furent découvertes a posteriori par les chercheurs.

La région méditerranéenne, d'une manière générale et le Maroc en particulier, avec son climat doux et ensoleillé, est dotée d'une biodiversité végétale riche avec une avalanche des plantes aromatiques et médicinales. La production des huiles essentielles à partir de ces plantes peut constituer une source économique pour ce pays.

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un potentiel important en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux (Dorman and Deans, 2000; Baser et al., 2002).

Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques comme antimicrobiennes, demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues dans

la médecine et les traditions médicinales folkloriques. Ces plantes représentent une nouvelle source de composés actifs (Bahorun et al., 1997).

C'est pourquoi, nous nous sommes intéressé à étudier certaines plantes, poussant à l'état spontané dans les montagnes du moyen Atlas (région de Tazouta).

Ce travail sera donc repartit en trois parties, initié par une recherche bibliographique ou nous apportons un abrégé de l'histoire de l'utilisation des plantes médicinales au cours des siècles, élucider la composition, la biosynthèse et les activités biologiques des huiles essentielles et exposé les plantes choisies pour l'étude de la composition chimiques et détermination des rendements en huiles essentielles. La partie pratique présente les méthodes et les techniques instrumentales d'analyses utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir:

- Extractions des huiles essentielles par hydrodistillation
- Les analyses de la composition chimique par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS)

Enfin la dernière partie discute les résultats obtenus dans cette étude.

Nous rapportons aussi une comparaison de la composition chimique et le rendement en huiles essentielles des différentes plantes étudiées afin d'identifier les composés majoritaires responsables d'une éventuelle activité biologique ou des valeurs thérapeutiques.

CHAPITRE I

ETUDE

BIBLIOGRAPHIQUE

I- Les plantes aromatiques et médicinales

I-1- Historique

Les plantes aromatiques et médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines par ce qu'elles contiennent des composantes à valeur thérapeutiques. Récemment l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes aromatiques et médicinales (Nostro et al., 2000).

Cependant l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans avant J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours des temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade (Fouché et al., 2000).

Dans la civilisation Chinoise, Indienne, ou Aztèque, on trouve la trace d'utilisations médicinales très anciennes. Le premier livre de matière médicinale le «Traité des plantes aromatiques et médicinales de l'empereur Shen Nung», fut rédigé vers 2900 avant J.C. 4000 ans avant J.C., les populations Babyloniennes et Sumériennes utilisaient les plantes pour se soigner: 600 tablettes d'argiles mentionnent 1000 plantes pour leurs vertus curatives et plus de 800 remèdes sont décrits par les Egyptiens.

Les grands médecins grecs, dont le plus célèbre est Hippocrate (5^{ém} siècle avant J.C.), utilisaient couramment les narcotiques, les laxatifs ou des émétiques (vomitifs). Théophraste (370-285 avant J.C.) classe les plantes dans son ouvrage «*Historia plantarum*».

Les Arabes avaient aussi leurs spécialistes en médecine et en pharmacie: Abu Baker Al-razi ou Razés (865-925), fut l'un des grands médecins de son temps et aussi le précurseur de la psychothérapie. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivait le «*Canon de la Médecine*». Ce livre servira de base à l'enseignement de la médecine dans les universités de Louvain et Montpellier jusqu'aux environ 1650. Ibn Al Baytar (1197-1242) rédigera le très complet somme des simples: ce livre contenait une liste de 1400 préparations et plantes médicinales dans un millier étaient connues des auteurs grecs (Fouché et al., 2000).

I-2- Importance des plantes médicinales et aromatiques dans les pays du Maghreb

Sur des milliers d'espèces végétales qui constituent la flore maghrébine, on peut estimer le nombre des plantes médicinales et aromatiques économiquement exploitables à 400 environ (Bellakhdar, 2006), parmi lesquelles une centaine seulement actuellement exploitées, de manière artisanale et complètement marginale par rapport aux modalités modernes de production, de valorisation et de commercialisation. Et pourtant ce secteur pourrait contribuer de façon appréciable au développement de la santé publique et de l'économie dans les pays du Maghreb car il dispose de riches potentialités, en quantité et en diversité.

De leur côté, les industries pharmaceutiques et les centres de recherches occidentaux manifestent un très vif intérêt pour les nombreuses ressources de la flore et de la pharmacopée traditionnelle maghrébines.

Certes, nos grands-parents ont toujours possédé une connaissance appréciable de la végétation qui constituait leur environnement et y avaient recours en permanence dans l'alimentation, les soins et l'artisanat (plantes tinctoriales, tannantes, etc). A la campagne, c'était un savoir vital et nécessaire. Mais même dans les grandes cités, nos ancêtres savaient s'entourer de plantes utiles (ornementales, aromatiques, condimentaires ou médicinales) qu'ils entretenaient avec amour et au milieu desquelles ils se sentaient en harmonie. Leurs jardins étaient emplis de Basilic, de Sauge, de Romarin, de Marjolaine, de Myrte et de Menthe.

Mais ce savoir a malheureusement tendance à se perdre aujourd'hui par suite du phénomène de désapprentissage propre à la civilisation urbaine. De plus les habitudes de consommation à outrance qui ont commencé à se manifester ont chassé lentement nos vieilles traditions d'auto-suffisance.

Quelle meilleure leçon tirer du triomphe actuel de la phytothérapie sur la scène internationale que celle de réapprendre à tous les niveaux – personnes, collectivités, institutions – le savoir des plantes, leur usage judicieux et les modalités de leur emploi, afin de mieux profiter de toutes les richesses que nous offre la nature. Agir différemment serait contraire aux intérêts de nos pays et des gens qui les habitent; et il n'est pas obligé, dans le cadre d'une politique de développement social et sanitaire de mener des orientations qui n'ont réussi

ailleurs qu'à coups de ponctions budgétaires énormes et de gâchis (Bellakhdar, 2006).

I-3- Répertoire des familles botaniques des plantes aromatiques

Actuellement, on compte environ 800000 espèces végétales et parmi elles, seulement 10% sont capables de synthétiser une essence, c'est-à-dire les plantes aromatiques. Certaines plantes aromatiques contiennent peu d'huiles essentielles, ce qui pose le problème d'obtenir une huile essentielle de qualité et cela est très onéreux. Pourtant elles sont très intéressantes d'un point de vue médical (Balz, 1986).

Voici ci-dessous les principales familles des botaniques aromatiques:

Les Abiétacées (anciennement appelées Pinacées)

On en trouve 200 espèces réparties en 10 genres, originaires de l'hémisphère Nord. Elles sont représentées par les conifères. On en recense 6 genres: les sapins, les cèdres, les mélèzes, les épicéas, et les pins.

Les Cupressacées

C'est une famille comprenant des arbres et arbrisseaux à feuilles écaillées en général. On y trouve les cyprès, les thuyas et les genévriers.

Les Lamiacées (anciennement appelées les Labiées)

C'est une importante famille de plantes dicotylédones avec environ 6000 espèces réparties en 9 sous familles elles même réparties en 210 genres. C'est une grande source d'huiles essentielles et antibiotiques pour la parfumerie, l'aromathérapie et l'industrie des cosmétiques. On y trouve l'aspic, le basilic, la lavande fine, le lavandin, les marjolaines, la mélisse, les menthes, les origans, le patchouli, le romarin et les sauges.

Les Myrtacées

Ce sont de grands arbres (exemple d'eucalyptus qui peut atteindre 120 m), des arbres, des arbustes ou arbrisseaux. On trouve 3000 espèces réparties en 130 genres, en zones tempérées, subtropicales et tropicales (surtout en Australie et en Amérique). Dans cette famille on trouve par exemple de nombreux eucalyptus, des girofliers, des myrtes et le niaouli.

Les Lauracées

Ils représentent 2000 à 2500 espèces. Ce sont des arbres verts et sauvages, que l'on trouve surtout au Brésil. On y trouve par exemple les cannelles (de Chine, Ceylan), le laurier noble, les bois de rose, les ravensares et le sassafras.

Les Rutacées

On y trouve 900 espèces réparties en 50 genres, qui sont en zones tropicales ou subtropicales. Ce sont des arbres, arbustes ou plus rarement des plantes herbacées, grands producteurs d'huiles essentielles. Voici quelques exemples de rutacées: le citron, le citron vert, la limette, la mandarine, l'orange douce et amère et le pamplemousse.

Les Ericacées

Famille des plantes ligneuses, que l'on trouve en régions tempérées et tropicales. On trouve 3500 espèces. Ce sont des plantes très précieuses en thérapeutique. Voici quelques exemples d'éricacées: la gaulthérie et le lédon.

Les Astéracées (anciennement appelées Composées)

Ils forment la plus grande famille du règne végétal. On trouve plus de 20000 espèces; surtout en zones sèches et arides. Voici quelques exemples d'astéracées: la camomille, l'estragon, l'inule odorante (herbe) et la santoline.

Les Poacées (anciennement appelées Graminées)

Ils forment une famille importante, on y regroupe près de 12000 espèces, réparties en plus de 700 genres.

On y trouve les citronnelles et le lemon-grass.

La caractéristique commune de toutes ces familles est la présence d'appareils sécréteurs d'essence dans tous les organes végétaux. L'essence se retrouve toujours dans plusieurs organes mais dans des proportions et des compositions totalement différentes. On retrouve les structures sécrétrices dans les sommités fleuries (chez les Lamiacées), dans les fruits, dans les racines (chez les Myrtacées), dans les bois (par exemple chez le santal), dans les racines (par exemple chez l'angélique), dans l'écorce (par exemple chez la cannelle) et dans les oléorésines. (Willem, 2004).

II- Les huiles essentielles

II-1- Définition et localisation

D'après les normes de l'Association Française de Normalisation (AFNOR, 2000), l'huile essentielle est définie comme un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, grâce à des procédés physiques tels que l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau (Hernandez, 2005) ou expression à froid pour les huiles essentielles d'agrumes. Ces composés lipophiles, volatils et souvent liquides extraits des plantes sont stockés dans des tissus végétaux spécialisés. D'autres produits obtenus par extraction avec d'autres procédés que ceux cités ci-dessus ne sont pas repris dans la définition d'huile essentielle donnée par les normes de l'Association Française de Normalisation. Ceux-ci portent alors les noms de:

- Concrète: obtenue à partir de matière fraîche d'origine végétale, par extraction au moyen d'un solvant non aqueux;
- Pommade florale: obtenue à partir de fleurs par enfleurage;
- Résinoïde: obtenu à partir d'une matière première sèche d'origine naturelle, par extraction à l'aide de solvant non aqueux;
- Absolue: obtenue à partir d'une concrète, d'une pommade florale ou d'un résinoïde par extraction par l'éthanol à température ambiante (Bruneton, 1993; AFNOR, 2000).

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs et sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices en s'accumulant en général dans des cellules glandulaires spécialisées, situées en surface de la cellule et recouvertes d'une cuticule. Ces huiles sont ensuite stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae, Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae). Divers organes, dans la plante, peuvent stocker aussi les huiles essentielles: fleurs (Ylang-ylang, Santal), sommités fleuries (Tagète, Lavande), racines (Vétiver), rhizomes (Gingembre, Curcuma), fruit (Badiane) ou graines (Bruneton, 1993; Anton et Lobstein, 2005).

II-2- Composition chimique des huiles essentielles (HE)

Les huiles essentielles sont des mélanges dont leur composition est complexe et variable. Les terpenoïdes sont en général très nettement dominants dans ces huiles essentielles. Ces terpenoïdes se présentent sous forme d'un ensemble de composés produits dans les cellules sécrétrices, conférant à la plante une odeur caractéristique.

Par ailleurs, les plantes aromatiques productrices des huiles essentielles (HE), ont fait l'objet de diverses recherches en particulier dans le domaine de la parfumerie. Ainsi, les travaux de Cu, (1990), qui reprennent ceux de Tedder, (1970), et de Brunechon, (1987), nous montrent clairement comment ces composés très volatiles sont synthétisés à partir d'unités méthyl-2-buta-1,3-diène (isoprène).

Les diverses combinaisons de ces unités, par réaction d'addition, conduisent aux terpènes, sesquiterpènes et diterpènes. Elles peuvent conduire aussi à leurs produits d'oxydation tels que les alcools les phénols, les aldéhydes, les cétones, les éthers et les esters terpéniques. Ces derniers peuvent alors être libérés de la plante et récupérés par diverses méthodes allant de l'enfleurage, pour les odeurs les plus délicates (fleur), à l'extraction à l'aide de solvants organiques (Cu, 1990).

D'autres constituants comme les carbures, les acides et les phénols sont aussi présents dans les huiles essentielles qui sont des mélanges très complexes (Chabal, 1995).

En bref, la structure des composées des huiles essentielles (HE) est constituée d'un squelette hydrocarboné, constituant une chaîne plus au moins longue. La majorité des sites fonctionnels présents sur ce squelette sont des sites oxygénés avec un ou plusieurs atomes d'oxygènes, pour quelques groupes fonctionnels azotés ou soufrés. Cette structure selon Franchome, (1981) et Pibiri, (2005), varie en fonction:

- ❖ Du nombre d'atome de carbone qui la constitue:
 - Les monoterpènes C_{10} ;
 - Les sesquiterpènes C_{15} ;
 - Et plus rarement diterpènes C_{20} ;
- ❖ du caractère saturé ou insaturé des liaisons;
- ❖ De leurs agencement : linéaire ou cyclique;
- ❖ De la configuration spatiale (forme de chaîne, de bateau, de trièdre...);
- ❖ De la nature des groupes fonctionnels:
 - Terpène $R_1-HC=CH-R_2$
 - Cétones R_1-CO-R_2
 - Phénols R_1-COOR_2
 - Alcools terpéniques $R-OH$
 - Ethers $R-O-R_2$

Une gamme de produits à odeur plus au moins prononcée selon la concentration en composés et en composés volatils recueillis, est alors obtenue. Les huiles essentielles (HE) produites par hydrodistillation, entraînement à la vapeur ou expression de l'écorce des fruits, sont les produits les plus concentrés en composés olfactifs (Tedder, 1970).

Chacun de ces composés de part leur volatilité dégage une odeur propre. Ainsi certaines plantes peuvent avoir une odeur similaire due à une molécule commune présente en quantité notable dans l'huile essentielle (HE).

II-3- Facteurs influençant la composition chimique

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions: l'environnement, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, la température et la durée de séchage, les parasites, les virus et les mauvaises herbes (Ozcan et al., 2004 ; Svoboda et Hampson, 1999; Smallfield, 2001).

Les conditions principales requis pour une production rentable en huile essentielles sont: le bon matériel végétal, la variété de la plante, le sol, l'équipement de distillation, le climat (Smallfield, 2001).

II-4- Propriétés physico-chimiques

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles, ce qui les différencie des huiles fixes. Très rarement colorées, ce sont des «liquides d'odeur et de saveur généralement fortes» (Witchtl et Anton, 1999). Elles sont peu miscibles à l'eau, voire non miscible. En revanche, elles sont généralement assez solubles dans les solvants organiques (Bruneton, 1993).

II-5- Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles (HE) en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle exact dans les processus de la vie de la plante est inconnu (Rai et al., 2003).

Certainement, plusieurs effets apparents utiles ont été décrits: réduction de la compétition des autres espèces de la plante par inhibition chimique de la germination des graines, et protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides, et contre les herbivores par goût et effets défavorables sur le système nerveux (Porter, 2001).

Certains auteurs pensent que la plante utilise l'huile pour pousser ou attirer les insectes, dans ce dernier cas, pour favoriser la pollinisation. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (Belaiche, 1979).

II-6- Rôle écologique et activités biologiques

Comme nous venons de la préciser plus haut, parmi les composés majoritaires des huiles essentielles (HE), nous trouvons les terpenoïdes. Ces derniers possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination. Mais lors des interactions végétal-animal, il s'agit aussi comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction des pollinisateurs (Langenheim, 1969). Prouvées par la recherche scientifique moderne, les huiles essentielles (HE) ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Elles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé et de la maladie (Balz, 1986; Willem, 2004).

Les différents travaux réalisés sur les plantes ont montré l'importance de la spécification du genre et de l'espèce, ainsi que de la variété de la plante d'où provient l'extrait.

➤ Activité antibactérienne

Capacité des huiles essentielles (HE) à s'opposer à la reproduction des bactéries en les détruisant. Les molécules aromatiques possédant le coefficient antibactérien le plus élevé sont les phénols, ensuite viennent les aldéhydes et les cétones (Balz, 1986; Willem, 2004). Chez *Inula helenium*, l'alantolactone et son isomère sont les constituants majeurs des huiles essentielles (HE) et ont des propriétés antibactériennes notamment contre *Mycobacterium tuberculosis* (Pedneault et al., 2001).

➤ Activité antifongique

Certaines huiles essentielles (HE) peuvent s'opposer au développement des champignons, en les détruisant grâce aux alcools et lactones sesquiterpéniques (Balz 1986; Willem, 2004).

En 1977 a été signalé que 60 % des dérivés des huiles essentielles (HE) examinées jusqu'au 1999 sont inhibiteurs de mycètes tandis que 30 % inhibent les bactéries (Cowan, 1999).

Le carvacol et thymol possèdent une activité antibactérienne, et antifongique contre les mycètes phytopathogène (Schwammle et al., 2001), également l'huile essentielle (HE) de la menthe pouliot dont le composé majoritaire est le pulégone (82%) est dotée d'un fort pouvoir antifongique contre *Penicillium* et *Mucor* (Benghazi et al., 2002).

➤ **Activité antivirale**

Les virus responsables de certaines pathologies sont traités avec succès par certaines huiles essentielles (HE). Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques surtout aux phénols et monoterpènes et certaines pathologies virales graves se trouvent très nettement améliorées grâce à elles (Willem, 2004; Balz, 1986).

➤ **Activité antiparasitaire**

S'opposent au développement et détruisent les parasites. Le groupe des phénols possède une action puissante contre les parasites, et les cétones et lactones possèdent aussi une certaine toxicité (Willem, 2004).

➤ **Activité antiseptique**

Les aldéhydes et les terpènes sont réputés pour leurs propriétés désinfectantes et antiseptiques et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes. En effet, l'huile d'Eucalyptus possède une propriété antiseptique pour les poumons (Caillard, 2003).

➤ **Activité antioxydante**

La capacité antioxydante de l'huile volatile est étroitement liée à tout le contenu phénol (Stefanovits-Banyai et al., 2003). Ceci a été confirmé par les travaux réalisés par Jukic et Milos (2005).

Les huiles essentielles (HE) ont d'autres activités comme l'activité analgésique (Origan, Thym) (Schwammle et al., 2001) ou des propriétés dépuratives ou cicatrisantes (Lavande) (Caillard, 2003).

II-7- La biochimie des huiles essentielles (HE)

Une huile essentielle peut contenir 50 à 100 éléments biochimiques différents, parfois 300 comme chez la Lavande vraie. On peut déterminer la composition des huiles essentielles par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectromètre de masse (GC/MS). Cette dernière technique est la plus utilisée car elle permet en même temps de préciser les vertus thérapeutiques de l'huile, son origine, sa spécificité ainsi que sa pureté. De plus, elle permet de faire une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile.

Le spectromètre de masse, que l'on associe souvent à la chromatographie, permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle. Bien qu'une huile essentielle contienne un grand nombre d'éléments biochimiques, les plus fréquemment rencontrés sont les alcools, les cétones, les aldéhydes terpéniques, les esters, les éthers et les terpènes. Voici ci-dessous le tableau présentant les principaux composés avec leurs caractéristiques.

Tableau 1: Les principaux éléments biochimiques des huiles essentielle (HE) avec leurs caractéristiques et les plantes contenant ces éléments (Willem, 2004).

Nom de l'élément biochimique	Caractéristiques	Quelques plantes possédants ces éléments
Les acides	Anti-inflammatoires très puissants. Agissent en calmants du système nerveux	Le clou de Girofle et le genévrier
Les aldéhydes	Intermédiaires entre alcools et cétones. Anti-inflammatoires Calmants du système nerveux Anti-infectieux. Peuvent irriter les muqueuses et la peau.	Le citron, la mélisse, la verveine des Indes, la coriandre douce, la cannelle de Chine.
Les cétones	Anti-inflammatoires Anti-infectieux Stimulent le système immunitaire à faible dose. Anticoagulantes, cicatrisantes, Lipolytiques (fonte des graisses), calmantes. A forte dose peuvent être neurotoxiques. Les huiles essentielles riches en	L'absinthe, la camomille noble, le fenouil, le romarin officinal, l'eucalyptus mentholé

	cétones ne doivent pas être employées seules.	
Les coumarines	Neuro- sédatives (calmantes pour le système nerveux), Anti-coagulantes, Les furo coumarines peuvent provoquer des tâches brunes sur la peau exposée au soleil. Les pyranno- coumarines peuvent endommager le foie suivant les doses.	Les coumarines dans l'angélique, le céleri, l'oranger doux et amer.
Les éthers	Ont une action antispasmodique Effets antalgiques Rééquilibrants nerveux (antidépresseur psychique) Inversion des effets si les doses sont trop fortes	L'anis étoilé, l'estragon, le basilic, la rose de Damas.
Les esters	Antispasmodiques Rééquilibrants nerveux Anti- arythmiques On en utilise souvent car présentent peu de dangers	Le lavandin, la lavande officinale, l'ylang-ylang, le géranium rose.
Les monoterpènes	Stimulants du système immunitaire Ont des propriétés antiseptiques Antalgiques à action percutanée Action révulsive sur la peau donc utiles en cas de douleur localisée Peuvent occasionner des brûlures importantes sur la peau donc leur action doit être limitée dans le temps.	Le thym, le cyprès, la sauge officinale Diluer les huiles essentielles avec des monoterpènes dans des huiles végétales biologiques
Les monoterpénols	Action contre les microbes, les champignons, les virus et les bactéries. Utiles lorsqu'il fait stimuler le système nerveux Ne brûlent pas la peau et ne sont pas toxiques pour le foie donc usage courant.	Le bois de rose, la camomille noble, l'eucalyptus, le lavandin, la marjolaine.
	Anti-infectieux Immunostimulants	Le clou de girofle, le thym, l'origan

Les phénols	Action contre les microbes, les d’Espagne, le poivre champignons, les virus et les noir... bactéries. Irritants pour la peau et muqueuses (peuvent entraîner des brûlures). Peuvent (en grande quantité) endommager le foie en détruisant les cellules hépatiques.	
Les sesquiterpènes	Anti-inflammatoires	La mélisse, l’ylang-ylang, le cèdre d’Atlas.
	Immunostimulants	
Les sesquiterpènes	Anti-allergiques	
	Emploi important en cosmétologie car ont une bonne tolérance avec la peau et ont des propriétés thérapeutiques.	
Les sesquiterpénols	Stimulant généraux	Le patchouli, la grande carotte sauvage, le santal blanc
	Toniques	
	Microbicides	

II-8- Utilité économique

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l’industrie: en alimentation, en cosmétologie, et en pharmacie (Bahorun et al., 1997). Il a eu donc un réveil vers un intérêt progressif de l’utilisation des plantes aromatiques et médicinales dans les pays développés comme dans les pays en voie de développement, parce que les herbes fines guérissent sans effet secondaire défavorable. Ainsi, une recherche de nouvelles substances naturelles est un choix normal (Scientific correspondance, 2003).

- **Utilisation en médecine:** en tant que médicament pour l’homme; exemple: contre le diabète (Amjad, 2005), contre les maladies de stress (Lee et al., 2003), contre le Malaria (Dastidar et al., 2004)
- **Utilisation en Agriculture:** pour lutter contre les insectes et les nématodes par exemple (Amjad, 2005)
- **Utilisation en alimentation:** des assaisonnements, des boissons, des colorants (Svoboda et Hampson, 1999; Porter, 2001). Les épices et les herbes aromatiques utilisés dans l’alimentation sont pour une bonne part responsable des plaisirs de la table (Delaveau, 1987), considérées comme condiments et aromates.

- **Utilisation en cosmétique:** des produits de beauté, parfums et articles de toilette, produits d'hygiène (Porter, 2001).
- Des suppléments diététiques (Smallfield, 2001).

II-9- Toxicité

Les substances volatiles sont en proportion beaucoup plus grande dans l'huile essentielle par rapport à la plante et représente un concentré de principes actifs. L'huile essentielle est donc douée d'une activité pharmacologique beaucoup plus grande que la plante fraîche ou l'organe desséché utilisé en pharmacie. En outre du fait de cette activité, l'huile essentielle peut être toxique (Chabal, 1995). En effet, des substances cétoniques peuvent provoquer des troubles psychiques et sensoriels et certains monoterpènes sont toxiques à fortes doses: camphre, menthol, cinéole et anéthol (Mansouri, 2008).

II-10- Méthodes d'extraction des huiles essentielles (HE)

Le mécanisme de distillation consiste à un entraînement des constituants volatils du matériel végétal par la vapeur d'eau. La seule différence entre les différents modes de ce mécanisme réside dans le degré de contact entre l'eau et le matériel végétal.

1-Hydrodistillation

L'hydrodistillation est sans aucun doute le procédé chimique le plus ancien, en effet il fut importé en Europe par les Arabes entre le VIII^{ème} et le X^{ème} siècle mais le principe était déjà connu et utilisé par les Egyptiens dès le IV^{ème} siècle après J.C. Il est aussi le plus utilisé, le plus rentable et celui convenant le mieux à l'extraction des molécules en vue d'une utilisation thérapeutique (Willem, 2004). Cette méthode peut facilement être reproduite en laboratoire et ne nécessite pas beaucoup de matériel. Elle est réalisée en 2 étapes:

La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense. Elle est ensuite récupérée dans un erlenmeyer où il est possible de distinguer 2 phases bien distinctes: l'huile essentielle et, dessous, l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée (CNDP, 2000).

Les 2 phases contenues dans l'erenmeyer sont ensuite transférées dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique (Willem, 2004). Il ne reste alors plus que l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter. Cette opération est appelée relargage.

Le protocole est le même pour une extraction à grande échelle mais le ballon et le chauffe-ballon sont remplacés par un alambic et l'erenmeyer par un vase florentin.

Bien que très avantageuse, l'hydrodistillation connaît des inconvénients (Willem, 2004): l'alambic doit être en inox ou en cuivre, le chauffage doit être fait sous basse pression, pour éviter la suroxydation et la décomposition des molécules, et doit être contrôlé régulièrement, l'eau doit être de l'eau de source non calcaire et l'extraction est relativement longue pour être intégrale.

2-Vapo-hydrodistillation

Dans ce cas, le matériel végétal se trouve supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic. La partie inférieure de l'appareil est remplie d'eau. L'évaporation de l'eau peut être obtenue par chauffage direct (alambic à feu nu) ou par injection directe de vapeur saturée. Dans ce mode de distillation, le matériel végétal à distiller est en contact avec la vapeur seulement, ce qui réduit le phénomène d'hydrolyse (Pellerin, 2000).

3-Distillation à la vapeur directe

Ce mode de distillation consiste à une introduction de la vapeur, saturée ou surchauffée à pression supérieure à la pression atmosphérique, au fond de l'alambic par un système de conduite en traversant la masse végétale de bas vers le haut. L'alimentation de l'alambic avec de la vapeur surchauffée permet la réduction du coût de l'opération (consommation plus faible de l'énergie).

4-Autres méthodes

4-1-L'expression au solvant volatil

L'hydrodistillation n'étant pas efficace avec certains végétaux tels que de la rose, la narcisse ou encore le mimosa, très tôt des chercheurs ont essayé de mettre au point de nouvelles méthodes permettant d'extraire des huiles essentielles. En effet les anciennes méthodes ne permettaient pas d'obtenir

d'huiles de bonnes qualités, le rendement était faible ou le produit obtenu était tellement altéré par rapport à l'odeur de base de la plante qu'il n'était pas exploitable. Ainsi dès le XVIII^{ème} siècle, des tentatives ont été menées en utilisant un solvant: l'éther. Cependant, cette technique fut très vite abandonnée à cause des coûts trop élevés de production et des risques d'explosion liée au solvant. Au XIX^{ème}, les progrès de la chimie et de meilleures connaissances en matière de sécurité liée à l'utilisation de solvants inflammables permirent d'améliorer cette méthode d'extraction en utilisant désormais l'hexane ou le benzène comme solvant. Ces derniers furent choisis en raison de leur grand pouvoir de solubilisation et de leur volatilité.

Le matériel végétal dont on veut extraire une huile est placé sur des grilles puis dans des cuves appelées extracteurs. On les remplit de solvant et on effectue ainsi plusieurs lavages successifs. Le mélange est ensuite envoyé dans un décanteur où on le laisse reposer: cette phase de repos va permettre d'obtenir deux phases. Celle au fond contiendra l'eau contenue dans les plantes, l'eau étant plus lourde que le solvant celui-ci sera à la surface (Académie de Nice, 2002). Les huiles essentielles étant très solubles dans le solvant, elles se retrouvent dans la même phase. Il suffit donc d'éliminer l'eau. Ensuite on fait s'évaporer le solvant afin d'obtenir un composé pur. Ainsi on obtient la « concrète » si notre matériel végétal était au départ des fleurs fraîchement cueillies ou un « résinoïde » s'il était composé au départ de racines, graines, mousses. Après avoir obtenu nos extraits, on effectue, dans le cas des « concrètes », un lavage à l'alcool dans des batteuses pour séparer les cires végétales. Ces cires sont ensuite éliminées grâce à un glaçage (action du froid) ainsi qu'un filtrage. On évapore l'alcool et on obtient « l'absolu de concrète ». Le « résinoïde » lui peut-être utilisé tel quel (Académie d'Amiens, 2005).

Cette technique est utilisée avec les plantes dont l'extraction d'huiles essentielles grâce à l'hydrodistillation est inefficace: c'est le cas du jasmin, de certaines roses, du narcisse, du néroli du mimosa. Cette méthode est aussi utilisée en parfumerie: l'absolu de concrète, très parfumée, est à la base de la production de certains parfums (Académie d'Amiens, 2005).

L'avantage de cette méthode est qu'elle ne demande aucune énergie mécanique, elle est totalement passive. Néanmoins, l'inconvénient majeur est la possibilité de traces de solvants si l'évaporation n'est pas totale. De plus, l'utilisation de solvants implique des consignes strictes de sécurité.

4-2-L'expression

Cette technique est utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes de la famille des Rutacées (citron, orange, mandarine, ainsi que la bergamote qui est issue d'un greffon de citronnier et de bigaradier). C'est une méthode assez simple qui consiste à briser mécaniquement (abrasion, compression, incision et perforation) les poches à essence (souvent au niveau de l'écorce ou péricarpe du fruit) pour recueillir un mélange d'essences odorantes et d'eau (Bivea, 2004).

Dans le cas des agrumes, on parle d'essence et non d'huiles essentielles car aucune modification chimique liée à des solvants ou à la vapeur a eu lieu (contrairement à l'hydrodistillation ou l'extraction par solvants volatils). Autrefois on frottait les fruits avec des gants de cuir recouverts de pierre ponce pour récupérer l'essence qui était ensuite filtrée. De nos jours, les fruits sont pressés puis on récupère l'essence par centrifugation. On extrait ainsi des huiles de bonne qualité à faible coût (Académie de Nice, 2002). L'avantage de cette méthode est sans aucun doute son faible coût de production ainsi que le fait que l'essence obtenue après l'écrasement des fruits ne nécessite seulement qu'une filtration pour obtenir un produit commercialisable. Néanmoins elle nécessite une énergie mécanique et est limitée aux agrumes.

4-3-L'enfleurage

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils par son principe mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant, ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants. On distingue deux types d'enfleurages: à froid ou chaud. L'enfleurage à froid consiste à piquer des fleurs fraîches dans de la graisse, cette dernière absorbant ainsi les molécules odorantes. On remplace régulièrement les fleurs pour gorger au maximum les graisses (on estime qu'un kilo de graisse absorbe trois kilos de fleurs). C'est ce qu'on appelle le défleurage. La graisse est ensuite lavée à l'alcool dans des batteuses, on évapore l'alcool et on obtient ainsi une absolue de pommade (Université de Jussieu, 2004). Cette technique était utilisée pour des fleurs fragiles ne supportant pas la chaleur. Elle n'est plus utilisée aujourd'hui que pour de rares produits très cher car le coût de production est exorbitant.

L'enfleurage à chaud (ou digestion) consiste quant à lui à faire fondre dans de grandes marmites au bain-marie de la graisse à laquelle on ajoute les fleurs. On renouvelle les fleurs tous les deux jours environs. Puis on filtre le tout à

travers plusieurs couches de tissus (lin et coton) afin de séparer la graisse inutile de la pommade. On peut utiliser cette pommade telle quelle ou la traiter par la même méthode que pour l'enfleurage à froid afin d'obtenir une absolue (Académie d'Amiens, 2005). Cette technique était déjà utilisée dans l'Antiquité en Egypte notamment, elle permettait de traiter des fleurs telles que la violette, la fleur d'oranger et la cassie

4-5-L'extraction au CO₂ supercritique.

Le terme supercritique signifie que le CO₂, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, le CO₂ est capable de dissoudre de nombreux composés organiques et c'est cette même propriété dont les fabricants se servent pour extraire les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO₂ supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO₂ s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle.

Cette toute nouvelle méthode est très prometteuse car le produit obtenu est proche du naturel et sans trace de solvant. De plus le CO₂ est non toxique, incolore, inodore et ininflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures (WEISS, 2002).

4-6-La distillation fractionnée

Cette technique est surtout utilisée en parfumerie. Elle permet d'isoler un ou plusieurs constituants d'une huile essentielle qui sont alors appelés isolats. Ces isolats peuvent être utilisés tel quel pour renforcer un effet olfactif ou transformé pour donner une nouvelle odeur. Par exemple, en transformant l'eugénol, tiré de l'essence de girofle, on peut obtenir de l'iso eugénol qui a une odeur d'œillet (ADEME, 2005).

III- Les plantes étudiées

Le genre botanique des genévriers, nom scientifique *Juniperus*, comporte un grand nombre d'espèces, des variétés rigides aux aiguilles piquantes et des variétés souples au feuillage en écailles.

D'origine américaine, asiatique, africaine et européenne, cet arbre atteint couramment 4 à 15 m de haut dans la nature, et même 25 à 30 m pour certaines

espèces. Il supporte les sols pauvres, éventuellement calcaires, sablonneux et secs, jusqu'à 4500 m d'altitude.

Le genre *Juniperus* est caractérisé par des cônes très particuliers, appelés galbules, comportant des écailles plus au moins complètement soudées entre elles. Beaucoup d'espèces sont dioïques, au printemps, les pieds mâles portent des petits cônes à l'aisselle des feuilles de l'année précédente. Les trois ovules, à l'aisselle des écailles supérieures du rameau, émettent une goutte micropylaire captant le pollen. Les fleurs se présentent sous la forme de très petits chatons à l'aisselle de feuilles vers le milieu de jeunes rameaux. Le genre *Juniperus* se présente sous forme de plusieurs espèces, environ 60 espèces (Adams, 1998), dont quatre peuvent se retrouver au Maroc (Benabid, 2000).

III-1- *Juniperus phoenicea*

1-Taxonomie

Règne	Plante
Embranchement	Spermatophyta (Gymnospermae)
Classe	Coniferopsida
Ordre	Coniferales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Phoenicea</i>

2- Description botanique

Juniperus phoenicea (Genévrier de Phénicie, «Arâar»). C'est un arbre branchu pouvant atteindre 8 mètres de hauteur, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 mètres de circonférence, l'écorce à de couleur brun rougeâtre, bourgeons nus, ramules cylindriques ; feuilles toutes ou presque toutes en forme d'écailles très petites, étroitement imbriquées sur 4-6 rangs, ovales rhomboïdales, non articulées, décurrentes, glanduleuses, bombées et sillonnées sur le dos. Cette espèce est monoïque, la floraison a lieu pendant l'hiver et la fructification à la fin de l'été de l'année suivante. A maturité, les fruits sont bruns-rouges et luisants. Elle devient de plus en plus rare sous l'effet de son exploitation abusive (son bois est très recherché comme combustible et fournit du charbon très apprécié). (Le floc'k, 1983; Tela Botanica, 2009).

3-Répartition géographique

Organise des écosystèmes prtésteppiques, lequel apparaît depuis le thermoméditerranéen jusque vers le montagnard méditerranéen, mais c'est au niveau du mésoméditerranéen et supraméditerranéen qu'il atteint son optimum. En effet c'est ce résineux qui, au Maroc, remplace le thuya dans les zones très continentales pour ce dernier, soit le chêne vert lorsque les précipitations deviennent insuffisantes pour ce feuillu. Il colonise presque les différents types de substrats sur les adrets du Moyen Atlas et surtout des Grands et Anti-Atlas. Il a une frange altitudinale comprise entre 1000 et 2200 m.

4-Utilisation traditionnelle

Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle: les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme alors que les fruits séchées et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Le Floc'k, 1983).

5-Rendement et activités biologiques

D'une manière générale, Le rendement et la composition chimique des huiles essentielles varient d'une espèce à une autre et d'une région à autre. Le rendement en huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* de la région de Boulmane (Maroc) est de 1.62% (Derwich et al., 2010), celui de Matmata (Tunisie) 0,70 %, celui de Grèce 0,21%, d'Espagne 0,66 % et celui d'une autre région de Tunisie (Medenine) 0,5 % (Bouzouita et al., 2008).

L'étude de la composition chimique de cette espèce a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (Derwich et al., 2010; Bouzouita et al., 2008; Cavaleiro et al., 2001; Rezzi et al., 2007) les résultats obtenus pour les différents travaux montrent que cette huile est formée principalement d' α -pinène, et qui représente plusieurs activités biologiques: antibactérienne, anti-inflammatoire, antivirale, sédative, herbicide, insectifuge, aromatisante (Duke, 1998).

III-2- *Juniperus oxycedrus*

1-Taxonomie

Règne	Plante
Embranchement	Spermatophyta (Gymnospermae)
Classe	Coniferopsida

Ordre	Coniferales
Famille	Cupressaceae
Genre	Juniperus
Espèce	oxycedrus

2-Description botanique

Le *Juniperus oxycedrus* (genévrier cade, Takka, Tikka) est un arbrisseau ou arbuste dressé de 1-8 m, à bourgeons écailleux, à ramules obtusément triangulaires; feuilles très étalées, verticillées par 3 et disposées sur 6 rang, toutes linéaires en alène à pointe fine et piquante, articulées, non décurrentes, marquées de deux sillons blanchâtres séparées par la nervure médiane en dessous, à carène obtuse et non sillonnées en dessous; fleurs dioïques; fruits rouges et luisants à la maturité, subglobuleux, assez gros (8-10 mm), dépassés ou égaux par les feuilles (Tela Botanica, 2009)

3- Distribution géographique

Organise des écosystèmes préforestiers qui dérivent par dégradation des chênaies vertes. Ils s'observent communément dans le Grand Atlas; rares ailleurs (Benabid, 2000). C'est une plante caractéristique des garrigues et des maquis, elle apprécie les lieux arides, rocaillieux, sur calcaire ou sur sols acides.

4-Utilisation traditionnelle

On en extrait l'huile de cade, utilisée pour ses vertus cicatrisantes, toujours très appréciée comme antiseptique et désinfectant. Elle est fréquemment associée à divers produits tels que les shampooings. Elle constitue un traitement local d'appoint du psoriasis et des dermites séborrhéiques. Elle sert aussi à soigner les sabots des chevaux. Les feuilles sont antidiarrhéiques.

5- Rendement et activités biologiques

Le rendement en huiles essentielles de *Juniperus oxycedrus* de l'Espagne est de 1,14 %, celui de Liban 0,72 % publiées respectivement par Loizzo et al., (2007) et Salido et al., (2002). Une récente étude sur l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* à été réalisée au Liban par Loizzo et al., (2007) qui a montré que cette essence contient comme constituant majoritaire α -pinène, ce résultat est en accord avec les résultats signalé par Adams et al., (1998) sur

l'analyse des huiles essentielles de genre *Juniperus* dans lesquelles les pinènes sont généralement dominants.

IV- Les techniques instrumentales d'analyses des huiles essentielles (GC/MS)

- Nombreux sont les laboratoires de chimie analytique aujourd'hui équipés d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse. La technique est généralement désignée par ses utilisateurs sous le terme abrégé de "GC-MS" pour "*Gas Chromatography – Mass Spectrometry*". La "GC-MS" est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés que l'industrie agroalimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement (Tranchant, 1995).

IV-1- Chromatographie en phase gazeuse (GC)

Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables. Le chromatographe en phase gazeuse est constitué de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire dans un four et un détecteur. Il existe différents types de détecteurs mais le spectromètre de masse tend aujourd'hui à supplanter tous les autres car il est le seul à fournir des informations structurales sur les composés séparés par chromatographie.

1-L'injecteur

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en solution au moyen d'une seringue puis vaporisé et mélangé au gaz vecteur. Le gaz vecteur, classiquement de l'hélium, constitue la phase dite "mobile". Son rôle consiste à véhiculer les analytes depuis l'injecteur jusqu'au détecteur via la colonne analytique.

2-Le four et la colonne capillaire

Le four contient l'élément clé de la séparation chromatographique: la colonne analytique. De nos jours, les colonnes utilisées en GC-MS sont des colonnes dites "capillaires" polaires et apolaires. La colonne est constituée d'un tube de silice fondue dont la paroi interne est couverte d'un film chimique nommé "phase stationnaire"; la paroi externe est gainée d'un revêtement en polyimide qui confère souplesse et robustesse à la colonne. La phase stationnaire est

caractérisée par les fonctions chimiques greffées sur la silice (apolaires, polaires).

Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité si la phase stationnaire est polaire, de leur volatilité si cette dernière est apolaire ; leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'élution différentes et ils sont donc séparés en fonction du temps. Confronté à un mélange mixte, on privilégie souvent le choix d'une colonne apolaire, les phases stationnaires apolaires étant généralement plus robustes et thermiquement beaucoup plus stables que leurs homologues polaires. En plus de la nature de la phase stationnaire, la colonne capillaire est caractérisée par trois paramètres géométriques : sa longueur (de 10 à 100 m), son diamètre interne (de 0,1 à 0,5 mm), l'épaisseur de sa phase stationnaire (de 0,1 à 5 μm); chacun exerce une influence déterminante sur la qualité de la séparation. L'objectif du chromatographe est triple: obtenir des pics chromatographiques les plus fins possibles (grande efficacité), les mieux séparés possible (bonne résolution), en un temps d'analyse minimum. La colonne capillaire sort du chromatographe et entre dans le spectromètre de masse via une "ligne de transfert". Il s'agit d'un cylindre intensément chauffé (environ 300°C) de manière à éviter que les molécules éluées ne se recondensent entre les deux appareils.

IV-2- Le spectromètre de masse

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des analytes. Il existe de nombreux types de spectromètres de masse, tous ont en commun trois éléments : une source, un analyseur et un détecteur.

-La source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites. En couplage avec un chromatographe en phase gazeuse, où les composés élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux, les sources utilisées sont dites à "ionisation électronique" ou à "ionisation chimique". Leur usage est réservé à l'analyse des composés gazeux ou facilement volatilisables. La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 300°C).

- L'analyseur sépare les ions produits par la source en fonction de leur rapport masse sur charge m/z . Les analyseurs sont caractérisés par quatre paramètres : la résolution, la vitesse de balayage, la gamme de rapports masse/charge balayée et la transmission (Bouchonnet, 2001).

- Le rôle du détecteur est double: détecter les ions proportionnellement à leur nombre et amplifier le courant correspondant pour le rendre détectable par l'électronique du système.

CHAPITRE II

MATERIELS ET

METHODES

I- Matériel végétal

Les échantillons de *Juniperus phoenicea* (feuilles) et *Juniperus oxycedrus* (feuilles) ont été récoltés le 21 Mars 2010 dans la région de Tazouta (région de Fès Boulmane).



Photo.1: feuilles de *Juniperus oxycedrus*



Photo.2: feuilles de *Juniperus phoenicea*

Le village de Tazouta est situé à 1180 m d'altitude au sud-est de Fès (33.6667° N, 4.6333° W). Le bioclimat de la région est de type semi-aride froid (Labhar, 1998). La pluviométrie annuelle moyenne est de 400 mm, les moyennes des minima du mois le plus froid de 2°C, et des maxima du mois le plus chaud de 40°C (Nouad, 1999). Le sol est formé principalement de Calcite. Les différentes cultures dans cette région sont surtout des céréales en bour fortement dépendantes des précipitations. Les champs céréaliers, manuellement épierés à l'intérieur des épandages caillouteux, sont de forme irrégulière et leur superficie n'excède pas 2 ha. Les pâturages sont des pelouses écorchées, déforestées de *Juniperus phoenicea* et de *Pistacia atlantica* en raison de la pression humaine et en particulier du surpâturage des ovins et des caprins. Le recouvrement de la végétation est irrégulier et faible.

II- Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée au laboratoire de Physiologie et Pharmacologie à la Faculté des Sciences Dhar Mehrez de Fès, en utilisant l'appareil de type Clevenger montré ci-dessous (Fig.1).

Dispositifs:

- ❖ Ballon à fond plat
- ❖ Chauffe ballon

- ❖ Réfrigérant
- ❖ colonne
- ❖ Supports élévateur, supports, pinces, micropipette, flacons.



Fig.1: Système d'hydrodistillation (FSDM-FES)

Les feuilles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* ont été séchées avant d'être utilisées, on introduit une masse de 100g de matière sèche dans un ballon de 1000 ml, on ajoute un volume de 500 ml d'eau distillée puis l'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huiles traverse une colonne ensuite le réfrigérant et les produits condensés sont récupérés, l'huile et l'eau se sépare par différence de densité (l'huile est plus légère).

II-1- Détermination du taux d'humidité:

Pour le calcul du taux d'humidité on a pesé 100 g des feuilles fraîches de chaque plante, qu'on a mis à l'étuve pendant 48h à une température de 60 °C, la masse recueillis est pesée pour déterminer la masse de la matière sèche.

$$H(\%) = \frac{M_F - M_S}{M_F} \times 100$$

Avec:

H(%): taux d'humidité exprimée en pourcentage;

M_F: masse de la matière fraîche pesée;

M_S: masse de la matière sèche pesée.

II-2- Détermination du rendement en huiles essentielles

Le rendement en huiles essentielles est calculé par la relation suivante:

$$Rdt (\%) = \frac{V \times 10^4}{(M_F \times 100) - (M_F \times H(\%))}$$

Avec:

Rdt (%) : Rendement en huiles essentielles pour 100g de la matière sèche;

V: Volume d'huiles essentielles recueilli;

M_F:Masse de la matière fraîche;

H (%): Taux d'humidité calculé.

III- Méthode d'Analyse chromatographique des huiles essentielles

La séparation et l'identification des différents composés chimiques des huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* a été réalisée par la chromatographie en phase gazeuse (Ultra GC Trace), couplée à un spectromètre de masse de type (PolarisQ) (Fig. 2), Trappe d'ions en mode impact électronique (EI) avec une énergie d'ionisations de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire apolaire en silice de type (Wcot Fused Silica), Phase stationnaire (CP-SIL5CB), 50 m de longueur, 0,32 mm de diamètre et 1,25 µm d'épaisseur. La température de la colonne est programmée de 40 à 280 °C à raison de 3 °C/min. La température de l'injecteur est fixée à 240 °C et celle de détecteur (source d'ionisation) est de 200°C. Le débit du gaz vecteur (Hélium) est fixé à 1 ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est de 1µl de l'huile diluée dans l'hexane. Les constituants de l'huile

essentielle ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux répertoriés dans une bibliothèque de type (NIST-MS).



Fig. 2: Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (GC/MS) (CURI- Fès)

- 1 : **Passeur automatique**
- 2 : **Chromatographie en phase gazeuse**
- 3 : **Four**
- 4 : **Gaz**
- 5 : **spectrométrie de masse**
- 6 : **pompes à vide**

CHAPITRE III

RESULTATS ET

DISCUSSIONS

I- Présentation des résultats

Le tableau 2 rassemble les résultats obtenus par l'hydrodistillation.

Tableau 2: les différents résultats obtenus

Echantillon (Feuilles)	Masse de l'échantillon (g)	Durée de la manipulation	Volume en HE recueillis (ml)	Couleur de l'HE	Taux d'humidité	
					M _F (g)	M _S (g)
<i>J. phoenicea</i>	100	2h 30 mn	0,8	Jaune pâle	100	56
<i>J. oxycedrus</i>	100	4h	0,4	limpide	100	73,1

HE: huiles essentielles

I-1- Calcul du taux d'humidité

Le calcul du taux d'humidité a donné les valeurs de 44 % et 26,9 % pour les feuilles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* respectivement.

I-2- Détermination du rendement en huiles essentielles

Les feuilles de *Juniperus phoenicea* ont fourni un rendement en huiles essentielles de **0,8 %** contre seulement **0,4 %** pour les feuilles de *Juniperus oxycedrus*.

I-3- Composition chimique des huiles essentielles

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) nous a permis de détecter et d'identifier les différents constituants des huiles essentielles de nos deux espèces.

1- Composition chimique d'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*

La figure.3 ci-dessous présente le chromatogramme obtenu par la GC/MS représentant le temps de rétention en fonction de l'abondance relative.

Le tableau 3 rassemble les différents constituants de l'huile essentielle avec, pour chaque composé; le temps de rétention, formule chimique et son pourcentage de surface (Air) par rapport au pic majoritaire.

RT: 0.00 - 60.00

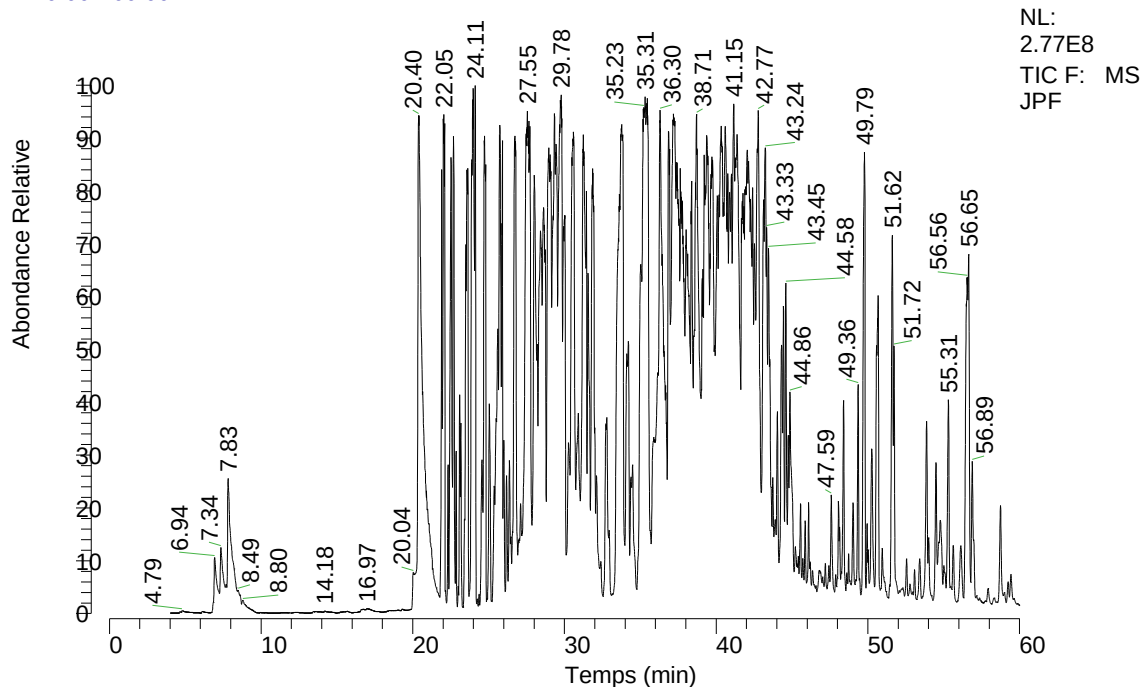


Fig.3: Chromatogramme de *Juniperus phoenicea*

Tableau 3: Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Juniperus phoenicea*

pics	Composés	Formules chimiques	*TR (min)	**Air (%)
1	Linalool	$C_{10}H_{18}O$	20,40	2,48
2	Sabinene	$C_{10}H_{16}$	21,10	2,58
3	Ylangene	$C_{15}H_{24}$	22,05	2,57
4	Myrtenal	$C_{10}H_{14}O$	22,52	1,57
5	α - terpineol	$C_{10}H_{18}O$	22,68	1,28
6	γ -terpinene	-	-	-
7	B-cadinene	$C_{15}H_{24}$	22,69	1,28
8	Pulégone	$C_{10}H_{16}O$	23,11	0,69
9	Linalyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	23,10	0,69
10	Camphene	$C_{10}H_{16}$	23,63	2,33
11	Caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	23,97	3,13
12	α - élémene	$C_{15}H_{24}$	24,75	2,45
13	Limonène	$C_{10}H_{16}$	24,74	2,45
14	1,8-Cineole	$C_{10}H_{18}O$	25,74	3,37

15	α-pinene	C₁₀H₁₆	25,74	3,37
16	Farnésène	C ₁₅ H ₂₄	25,91	1,03
17	β -caryophyllenyl alcool	C ₁₅ H ₂₆ O	25,91	1,03
18	Piperitone	C ₁₀ H ₁₆ O	26,84	2,05
19	Terpinyl formate	C₁₁H₁₈O₂	27,55	4,28
20	Corymbolone	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	28,04	1,20
21	Pulegone semicarbazone	C₁₁H₁₉N₃O	29,33	3,79
22	Trans-pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	30,46	2,25
23	Piperitone oxide	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	31,14	2,45
24	Thujopsene-(12)	C ₁₅ H ₂₄	32,79	1,04
25	Lédène	C ₁₅ H ₂₄	32,80	1,04
26	Copaene	C ₁₅ H ₂₄	34,22	1,18
27	Epi- bicyclosesquiphellandres	C ₁₅ H ₂₄	34,23	1,18
28	Epiglobulol	-	-	-
29	Murolane	C ₁₅ H ₂₈	34,25	1,18
30	á-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	35,01	1,20
31	Isoledene	C ₁₅ H ₂₄	35,02	1,20
32	ζ -Himachalene	C ₁₅ H ₂₄	35,03	1,20
33	Farnesyl bromide	C₁₅H₂₅Br	36,30	3,49
34	Germanicol	C₃₀H₅₀O	36,31	3,49
35	γ-Amorphane	C₁₅H₂₈	37,48	3,78
36	Borneol	C₁₀H₁₈O	38,54	3,49
37	Astaxanthine	-	-	-
38	Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	39,01	3,13
39	Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	41,06	3,28
40	Isolongifolene,7,8- dehydro-8a-hydroxy-	C ₁₅ H ₂₄ O	44,31	0,69
41	lupeole	-	-	-
42	α -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	44,35	0,25
43	lédène alcool	C ₁₅ H ₂₄ O	44,58	0,76
44	β -caryophyllene	-	-	-
45	Murolanediène	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	44,59	0,76
46	Pregnanobne	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	44,79	1,71
47	γ -cadinene	C ₁₅ H ₂₄	45,55	1,48

48	Verbenol	-	-	-
49	Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	46,89	1,10
50	Germacrene B	C ₁₅ H ₂₄	47,01	1,64
51	Terpinolene	-	-	-
52	Phyllocladène	C ₂₀ H ₃₂	50,68	1,38
53	Cupressène	C ₂₀ H ₃₂	51,62	1,50
54	Tricyclene	C ₁₀ H ₁₆	51,72	1,12
55	Isopiperitenone	C ₁₀ H ₁₄ O	56,56	0,45
Total des composés identifiés			91,04	%
*** Rdt (%)			0,8	%

***TR:** Temps de rétention (en min)

** **Air:** Surface des Pics

*****Rdt (%)**: Rendement

Pour un rendement de 0,8 %, l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* comprend 48 composés présentant un total de 91,04 %. Les composés majoritaires sont: Terpinyl formate avec un taux de 4,28 %, Pulegone semicarbazone 3,79 %, γ-Amorphane (3,78 %), Farnesyl bromide (3,49 %), Germanicol (3,49 %), et Borneol (3,49 %), 1,8-Cineole (3,37 %) et α-pinene (3,37 %).

2- Composition chimique d'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*

La figure.4 illustre le chromatogramme obtenu de l'analyse par GC/MS des huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus oxycedrus*

Le tableau 4 résume la composition chimique de l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus*.

RT: 0.00 - 60.01

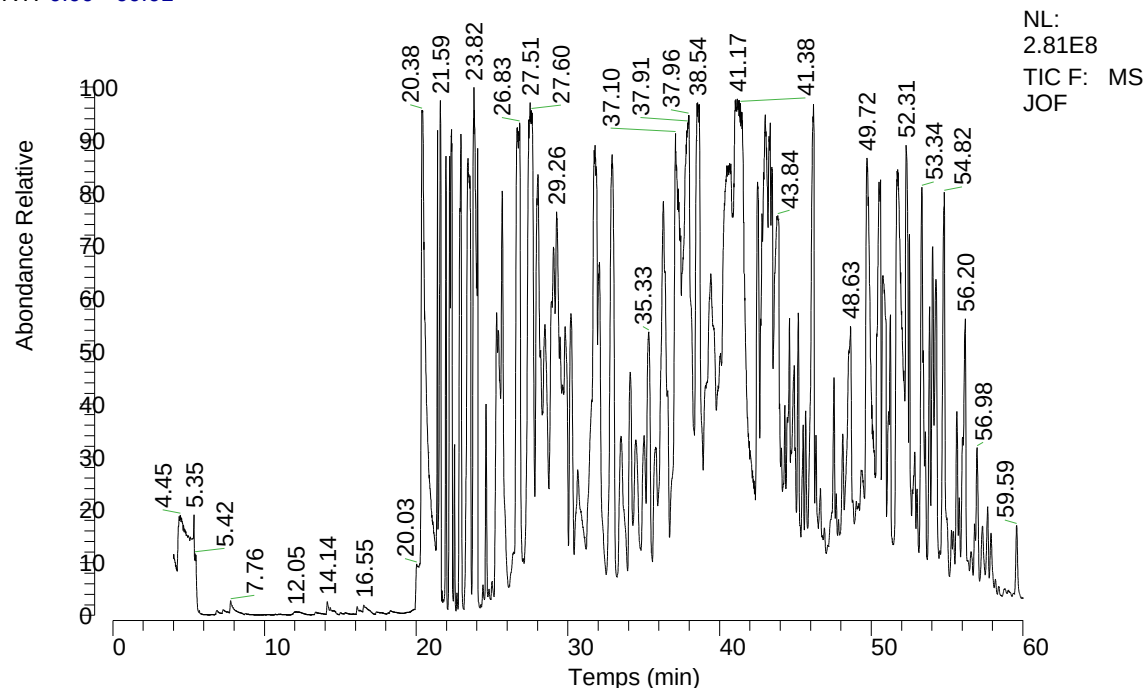


Fig. 4: Chromatogramme de *Juniperus oxycedrus*

Tableau 4: Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Juniperus oxycedrus*

pics	Composés	Formules chimiques	*TR (min)	**Air (%)
1	Linalool	C ₁₀ H ₁₈	20,38	1,58
2	Sabinene	-	-	-
3	Ylangene	-	-	-
4	Myrtenal	C ₁₀ H ₁₄ O	22,32	2,35
5	α- terpeneol	C ₁₀ H ₁₈ O	22,95	1,83
6	γ-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	22,96	1,83
7	B-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	22,97	1,83
8	pulégone	-	-	-
10	Linalyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	23,41	3,33
11	Camphene	C ₁₀ H ₁₆	23,82	2,68
12	caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	23,85	2,68
13	α- élémene	C ₁₅ H ₂₄	24,05	1,12
14	Limonène	C ₁₀ H ₁₆	24,06	1,12
15	1,8-Cineole	C ₁₀ H ₁₈ O	25,31	1,43

16	α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	25,32	1,43
17	Farnésène	C₁₅H₂₄	25,67	12,27
18	β -caryophyllenyl alcool	-	-	-
19	piperitone	C ₁₀ H ₁₆ O	26,83	1,80
20	Corymbolone	C ₁₅ H ₂₄ O ₂	28,03	2,11
21	Pulegone semicarbazone	-	-	-
22	Trans-pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	30,20	1,23
23	Piperitone oxide	C₁₀H₁₆O₂	31,79	3,66
24	Thujopsene-(12)	C ₁₅ H ₂₄	32,09	1,24
25	Lédène	C ₁₅ H ₂₄	32,92	3,25
26	Terpinyl formate	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	33,53	0,94
27	copaene	C ₁₅ H ₂₄	34,10	0,99
28	Epi-bicyclosquiphellandres	C ₁₅ H ₂₄	34,11	0,99
29	Epiglobulol	C ₁₅ H ₂₆ O	35,33	1,27
30	Murolane	-	-	-
31	á-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	35,35	1,27
32	Isoledene	C ₁₅ H ₂₄	35,36	1,27
33	ζ -Himachalene	C ₁₅ H ₂₄	36,29	1,75
34	Farnesyl bromide	C ₁₅ H ₂₅ Br	36,30	1,75
35	Germanicol	C ₃₀ H ₅₀ O	36,30	1,75
36	γ -Amorphane	C ₁₅ H ₂₈	37,10	1,63
37	Borneol	C₁₀H₁₈O	37,96	5,75
38	Astaxanthine	C ₄₀ H ₅₂ O ₄	39,42	1,51
39	Geranyl acetate	-	-	-
40	myrcene	C ₁₀ H ₁₆	41,47	3,38
41	Isolongifolene,7,8-dehydro-8a-hydroxy-	-	-	-
42	lupeole	C ₃₀ H ₅₀ O	43,35	1,59
43	α -phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	43,89	1,65
44	lédène alcool	C ₁₅ H ₂₄ O	46,20	2,75
45	β -caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	48,63	1,53
46	Murolanediène	-	-	-
47	Pregnanobne	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	49,72	1,79
48	γ -cadinene	-	-	-
49	verbenole	C ₁₀ H ₁₆ O	50,61	1,97

50	bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	50,78	1,09
51	germacrene B	-	-	-
51	terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	51,26	0,84
52	Phyllocladène	C₂₀H₃₂	52,31	3,64
53	Cupressène	-	-	-
54	tricyclene	C ₁₀ H ₁₆	53,34	1,76
55	isopiperitenone	C ₁₀ H ₁₄ O	56,26	1,24
Total des composés identifiés			91,93 %	
***Rdt (%)			0,4 %	

***RT**: Temps de rétention (en min)

** **Air**: Surfaces des Pics (en %)

*****Rdt (%)**: Rendement

Le rendement en huile essentielle extraite des feuilles du *Juniperus oxycedrus* est de 0,4 % avec un total de 91,93 %. Le pic majoritaire correspond au composé Farnésène (12,27 %), autres composés sont présents à des teneurs moins importantes: Borneol (5,75 %), Peperitone oxide (3,66 %), et Phyllocladène (3,64 %). Le total des composés identifiés est de 43 composés.

II- Discussions

II-1- Rendement en huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus oxycedrus* ont données un rendement de 0,4 %, qui est supérieur a celui trouvé par Mansouri, 2008 (0,15 %), et inférieur à celui trouvé par Loizzo et al., (2007) (*Juniperus oxycedrus* de l'Espagne) et Salido et al., (2002) (*Juniperus oxycedrus* du Liban) qui sont respectivement 1,14 % et 0,72 %.

Pour le rendement obtenu de *Juniperus phoenicea* qui est de 0,8 %, il apparaît qu'il est plus important que celui de la région de Matmata (Tunisie) (0,7%), de la Grèce (0,21%), de l'Espagne (0,66%), et celui d'une autre région de la Tunisie (Medenine) (0,5%) (Bouzouita et al., 2008)., mais il est inférieur à celui trouvé au Maroc (Moyen Atlas) par Derwich et al., (2010) (1,62%).

La différence des rendements observées peut être expliquée par divers facteurs tels que la provenance, la période de récolte, l'âge de la plante, l'humidité du matériel végétal, la technique d'extraction, et aussi les facteurs environnementaux (Zrira et Benjilali, 1991; 1992).

II-2- Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* est différente de celle de *Juniperus oxycedrus*.

L'huile essentielles de *Juniperus phoenicea* contient comme composés majoritaires: Terpinyl formate, γ -Amorphane, Farnesyl bromide, Germanicol, 1,8-cineol et α -pinene mais qui présentent des taux plus faible dans l'huile essentielles de *Juniperus oxycedrus*. Cette dernière ne contient pas le composé Pulegone semicarbazone qui compte parmi les éléments majoritaires de l'huile essentielles de *Juniperus phoenicea*. Il y'a autres composés caractéristiques de cette dernière et qui sont absents dans l'autre espèce: Ylangene (2,57%), Pulégone (0,69%), β -caryophyllenyl alcool (1,03%), Muurolane (1,18%), Geranyl acetate (3,13%), Murolanediène (0,76%), γ -cadinene (1,48%), Germacrene B (1,64%) et Cupressène (1,5%).

L'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* contient comme constituants majoritaires le Farnésène (12,27%) qui a un taux plus faible dans le *Juniperus phoenicea* (1,03%). Il y'a autres composés qui sont plus abondants dans la première que dans la deuxième comme: Borneol, Peperitone oxide et Phylocladène. Il y'a en outre des composés spécifiques de *Juniperus oxycedrus*: γ -terpinene (1,83%), Astaxanthine (1,51%), Lupeole (1,59%), β -caryophyllene (1,53%), Verbenole (1,97%) et Terpinolene (0,84%).Ceux-ci montre bien qu'il y'a une différence quantitative et qualitative entre l'huile essentielle extraites des feuilles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus*.

II-3- Etude comparative entre *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus*

Tableau 5: Récapitulatif de la comparaison de la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles de *Juniperus phoenicea* et de *Juniperus oxycedrus*.

Espèces	Nombre de composés identifiés	Composés majoritaires	Total Huiles (%)	Rendement (%)
<i>Juniperus phoenicea</i>	48	Terpinyl formate, Pulegone semicarbazone, γ -Amorphane, Farnesyl bromide, Germanicol, Borneol, 1,8-Cineole, α -Pinene.	91,04	0,8
<i>Juniperus oxycedrus</i>	43	Farnésène, Borneol, Peperitone oxide, Phyllocladène.	91,93	0,4

Le nombre de composés identifiés pour *Juniperus phoenicea* est de 48, qui est légèrement supérieur à celui de *Juniperus oxycedrus* (43 composés). Le total en huiles est très important au niveau des deux plantes étudiées avec 91,04 et 91,93 % pour respectivement *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus*. Cette dernière a montrée un rendement faible de l'ordre de 0,4 % et qui est largement inférieur à celui de l'autre plante qui a donnée un rendement important de 0,8 %. En ce qui concerne les composées majoritaires, il apparait qu'il y a une différence considérable entre la composition des deux plantes.

La comparaison entre les résultats de la composition chimique des huiles essentielles reste difficile. En effet, les facteurs de l'environnement, la localisation, la variété de la plante, le patrimoine génétique, le stade de végétation de la plante, le mode d'extraction, ainsi que d'autres facteurs influent qualitativement et quantitativement cette composition.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Le retour à la phytothérapie constitue aujourd'hui une alternative très importante pour la pharmacologie moléculaire, en effet notre flore marocaine représente une richesse à intérêt économique, social, et culturel. Ainsi notre travail s'inscrit dans le cadre de la conservation et la valorisation des plantes médicinales et aromatiques marocaines.

Cette présente étude a pour objectif la détermination du rendement et la composition chimique des huiles essentielles de deux plantes issues de la région de Tazouta (région de Fès Boulmane) qui sont *Juniperus phoenicea* (Arâar) et *Juniperus oxycedrus* (Takka, Tikka), pour cela, et après l'extraction des huiles essentielles par la méthode d'hydrodistillation, on a recours à l'une des méthodes instrumentales d'analyses qui est la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Les rendements en huiles essentielles des feuilles des deux plantes étudiées sont : pour *Juniperus phoenicea* 0,8 %, et 0,4% pour *Juniperus oxycedrus*, et qui représente respectivement 91,04 et 91,93 % de la totalité de l'huile.

D'une manière globale, nous avons constaté que les huiles essentielles sont composées d'un nombre important de constituants connus (48 composés pour *Juniperus phoenicea*, et 43 composés pour *Juniperus oxycedrus*). Chaque huile apparaît comme un mélange indissociable de vertus thérapeutiques intéressantes.

Pour les perspectives de ce travail, il faut mener une étude détaillée sur les activités biologiques de ces huiles pour montrer leur importance et la possibilité de leur exploitation dans certains domaines: pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires, insecticides, industriels, etc.

ANNEXE 1

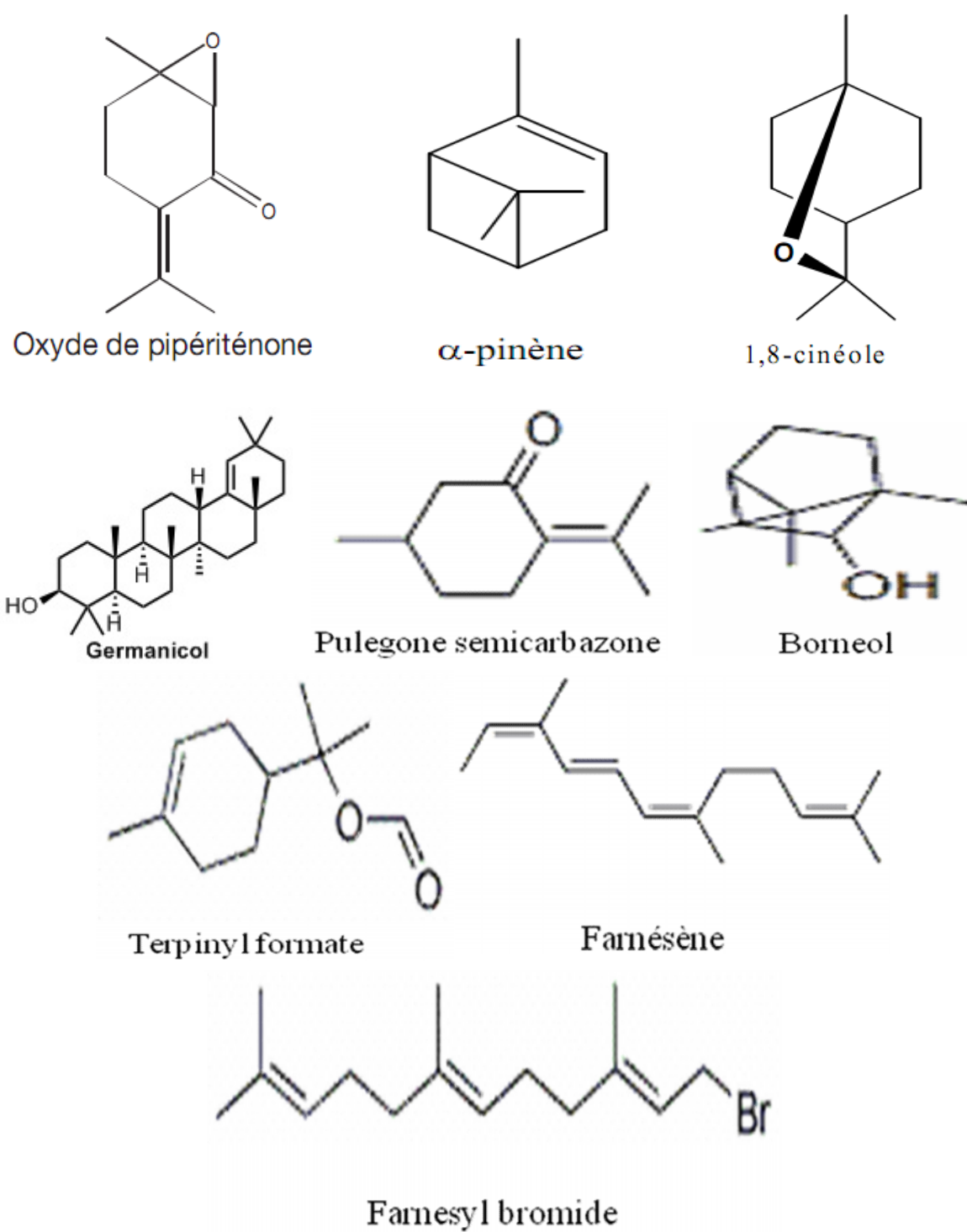


Fig. 5: Structures de quelques composés majoritaires identifiés dans les huiles essentielles des deux plantes étudiées

ANNEXE 2

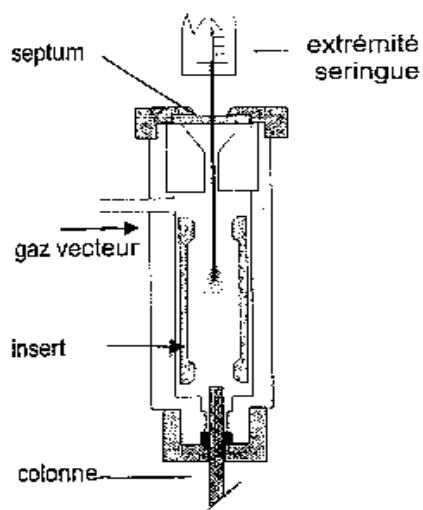


Fig. 6 : Schéma d'un injecteur splitless

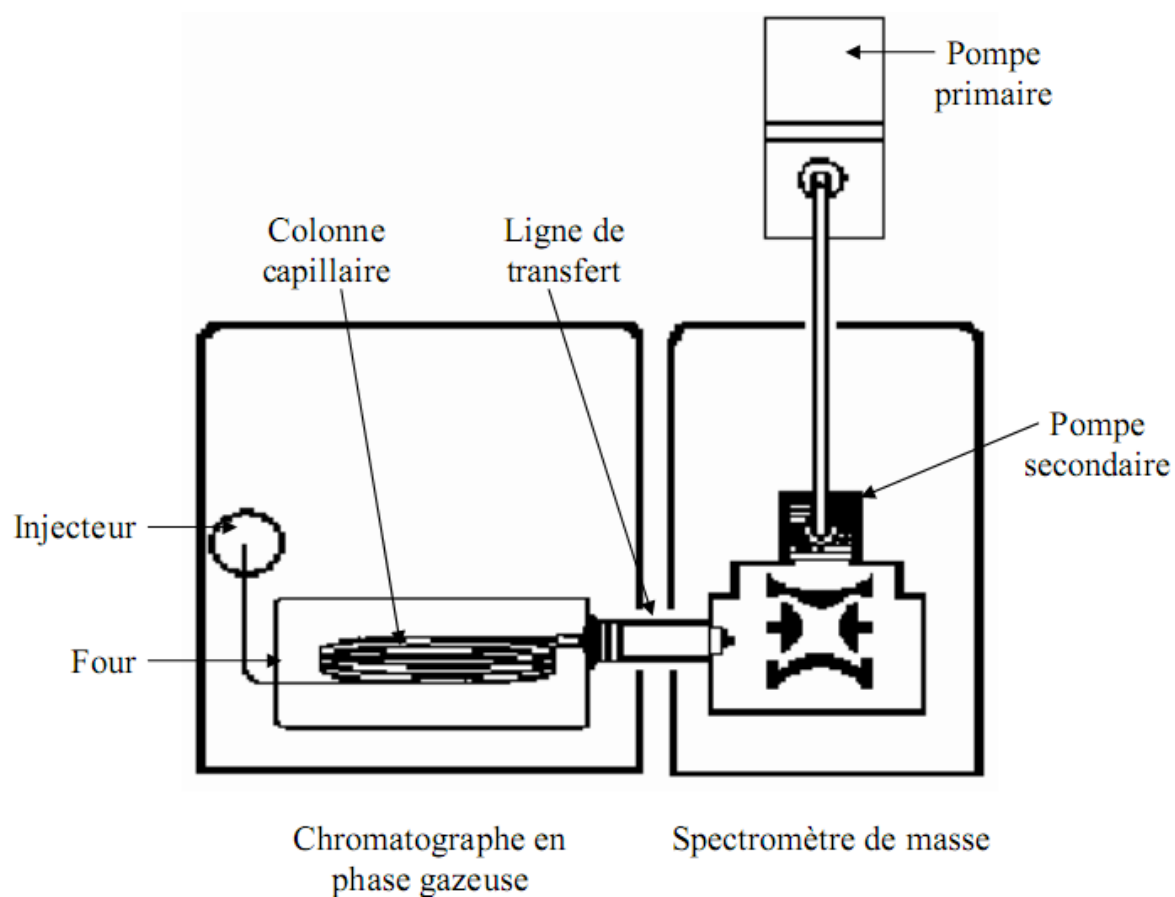


Fig. 7: Schéma d'un appareil de couplage GC / MS

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Adams R.P., 1998: The leaf essential oils and chemotaxonomy of *Juniperus* sect *Juniperus*, *Biochemical Systematics and Ecology*, 26, 637-645

AFNOR, 2000. Recueil de normes. Les huiles essentielles. Tome 1. Echantillonnage et méthodes d'analyse. AFNOR. Paris, 440 p – recueil de normes. Les huiles essentielles. Tome 2. *Monographies relatives aux huiles essentielles (H à Y)*. AFNO. Paris, 661-663

Amjad H. M., 2005: Neem seed oil: Bangladesh. Examples of the development of pharmaceutical products from medicinal plants. *Bangladesh Council of Scientific and Industrial Research (BCSIR)*, 10: 59-63

Anton R. et Lobstein A., 2005: Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles. Tec & Doc, Paris, 522p

Bahorun T., Gressier D., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J.C., Pinkas M., 1997: Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittelforschung / Drug research*, 46 II (11): 1086-1089

Balz R., 1986: Les huiles essentielles et comment les utiliser, 152 p.

Baser K.H.C., Demirci B., Demirci F., Koçak S., Akinci Ç., Malyer H, Güleriyüz G., 2002: Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. - *Planta Med.*, 68(10): 941-943.

Belaiche P., 1979: Traité de la phytothérapie et de l'aromathérapie. Tome 1 *Aromatogramme*.

Bellakhdar J., 2006: Plantes médicinales au Maghreb et soins de base (*Précis de phytothérapie moderne*), Editions Le Fennec, Casablanca (Maroc), 386p.

Bellakhdar J., 1997: Médecine arabe ancienne et savoir populaires. *La pharmacopée traditionnelle Marocaine*, Ibis Press, Paris, France, 764p

Benabid A., 2000: Flore et écosystèmes du Maroc. Evaluation et préservation de la biodiversité. *Edition Ibis Press*, Paris, France, pp 49-52

Benghazi L., Lahlou N., Alaoui Ismaili M., Abousaouiria T., Habti N., Tantaoui Iraki A., Talbi M., Blaghen M. et Fellat-Zarrouck K., 2002: Extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la

Menthe pouliot. Test antifongique. *Congrès de Biochimie Casablanca. Biochimie et Santé*, p 38-40.

Bouchonnet S., 2001 : Comparaison des performances des analyseurs quadripolaires en spectrométrie de masse : trappes ioniques versus quadripôles. *Spectra Analyse*, 222, p 11-18.

Bouchonnet S., Hoppilliard Y., Kargar-Grisel T., 1999 : Les différents types de spectromètres de masse utilisés pour l'analyse des composés organiques et bio-organiques, *Spectra Analyse*, 207, p 11-25.

Bouzouita N., Kachouri F., Ben Halima M., Chaabouni M.M, 2008: Composition chimique et activité antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la société chimique de Tunisie*, 10: 119-125.

Brunechon J., 1987. In Hernandez Ochoa L. R., 2005: Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant / actif » D'origine végétale – Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p

Bruneton J., 1993: Pharmacognosie Phytochimie plantes Médicinales. 2 édition, *lavoisier*, Paris. PP 41-54

Caillard J., 2003. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir anttimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Cavaleiro C., Rezzi S., Salgueiro L., Bighelli A., Casanova J., Proenca da Cunha A., 2001: *Biochem. Systematics Ecol.*, 29: 1175-1183.

Chabal M., 1995: Etude chimique et valorisation pharmacologique des huiles essentielles de thym et d'origan du Maroc – Thèse de l'Université Mohamed 5, 118p

Chakrabatary A.N., Motohashy N., Shirataki Y., 2004: Studies on the antibacterial potentiality of isoflavones. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 23: 99-102

Cowan M. M., 1999. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir anttimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la

région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p.

Cu J., Q, 1990. In Hernandez Ochoa L. R., 2005 : Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant / actif » D'origine végétale – thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse , 209p

Dastidar S.G., Manna A., Kumar K.A., Mazumdar K., Dutta N.K., Delaveau P., 2004: Les épices, histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. *Albin Michel Editeur*, p 372.

Delaveau P., 1987: Les épices, histoire, description et usage des différents épices, aromates et condiments. *Albin Michel Editeur*, p 372.

Derwich E., Z. Benziane and A. Boukir, 2010: Chemical composition of leaf essential oil of *Juniperus phoenicea* and evaluation of its antibacterial activity. *International Journal of Agriculture & Biology*., 12: 199–204.

Dorman H.J.D et S.G. Deans., 2000: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 308-316.

Duke J.A. 1998: Phytochemical Database. USDA-ARS-NGRL (ed), Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland.

Fouché J.G., Marquet A., Hambuckers A., 2000: les plantes médicinales, de la plante au médicament. *Observatoires du monde des plantes Start-Tilman*

Franchome 1981. In ELAJJOURI M., 2007 : activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherianus* vis-à-vis des champignons de pourriture du bois, 69p

Hernandez O. L. R., 2005: Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant / actif » d'origine végétale – Thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p.

Jukic M. et Milos M., 2005 : In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Labhar M. 1998: Les milieux forestiers et pré-forestiers du Moyen-Atlas central nord occidental : approche géographique, phytoécologie et dynamique. Thèse Doctorat d'Etat es-Lettres. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah, Fès. 62p.

Langenheim J. H., 1969 : a botanical inquiry. Science. 163 (872), 1157-1169 in Henandez Ochoa L. R., 2005. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine «solvant / actif» D'origine végétale – thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p.

Lee K.W., Kim Y.J., Lee H.J., Lee C.Y., 2003: Cocoa has more phenolic phytochemicals and higher antioxydant capacity than teas and red wine. J. Agric. Food Chem. 51, pp 7292-7295.

Le floch E, 1983: Contribution à une étude ethnobotanique de la flore tunisienne. Edition Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Loizzo M.R., Tundis R., Conforti F., Saab A.M., Statti G.A., Menichini F. 2007 : Comparative chemical composition, antioxydant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *Oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. Food chemistry., 105, 572-578

Mansouri N, 2008: valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et *Juniperus oxycedrus* du Maroc. 57p

Nostro A., Germano M. p., D'Angelo V., Marino A., Cannatelli M.A., 2000: Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lettre en microbiologie appliquée*. 30 (5): 379-385.

Nouad M. 1999: Préparation du développement économique et social, commune rurale Tazouta, province de Sefrou. *Rapport administratif inédit*, Tazouta.

Özcan M. et Chachat J-C., 2004: Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. *Bulg. J. Plant Physiol.* 30(3-4): 68-73.

Pednault K., Léonhart S., Angers, Gosselin A., Ramputh A., Arnason J. T. et Dorais M., 2001. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir anttimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Pellerin P., 2000: Techniques d'extraction des huiles essentielles. Actes de la journée de réflexion sur les plantes aromatiques et médicinales. *Ann. Rech. For.*, Maroc, pp 74-103

Pibiri P., 2005. In Mansouri N., 2008 : valorisation des huiles essentielles de *Juniperus thurifera* et *Juniperus oxycedrus* du Maroc. 57p

Porter N., 2001: Essential oils and their production. *Crops and Food Research*. Number 39

Rai M.K., Acharya D., Wadegaonkar P., 2003: Plant derived-antimicrobials: potential of Asteraceous plants, In: *Plant derived-antimicrobials: current trends and Future prospects*, Haworth press, N-York, London, Oxford, pp 165-185

Rezzi S., Cavaleiro C., Bighelli A., Salgueiro L., Proenca da Cunha A., Loizzo M.R., Tundis R., Conforti F., Saab A.M., Statti G.A., Menichini F., 2007: Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *Oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food chemistry.*, 105: 572-578

Salido S., Altarejos J., Nogueras M., Sanchez A., Pannecouque C., Witvrouw M., De Clercq E., 2002: Chemical studies of essential oils of *Juniperus oxycedrus* ssp. *Badia*. *Journal of Ethnopharmacology.*, 81: 129-134.

Schwammle B., Winkelhausen E., Kuzmanova S. et Stener W., 2001. In Zohra M., 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Scientific correspondence, 2003: Broad spectrum antimycotic drug for the treatment of ringworm infection in human beings. 85 (1): 30-34

Smallfield B., 2001: introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crops and Food Research*. Number 45, P4.

Stefanovits-Banyai E., Tulok M. H., Hegedus A., Renner C et Varga I. S., 2003. In Zohra M., 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Svoboda et Hampson 1999. In Zohra M., 2006 : Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoides de quelques plantes de la

région de Tlemcen – Thèse de l'Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen – Faculté des Sciences, 150p

Tedder J. M., 1970. In Hernandez Ochoa L. R., 2005: Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine « solvant / actif » D'origine végétale – thèse de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 209p

Tela Botanica, 2009: Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock BDNFF v4.02

Tranchant J., 1995: Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson.

Wichtl M. et Anton R., 1999: plantes thérapeutiques. Technique et Documentation, Paris.

Willem J.P., 2004: Les huiles essentielles, médecine d'avenir, 318 p.

Zrira S., Benjilali B., 1991: Effect of drying on leaf oil production of Moroccan *Eucalyptus camaldulensis*. *J.Ess.Oil Res.* 3: 117-119.

Zrira S., Benjilali B., 1992: Essential oils of twenty seven Eucalyptus species grown in Morocco. *J. Ess.Oil Res.*4: 259-264.

Sites Internet:

Académie d'Amiens, 2005:

<http://www.acamiens.fr/pedagogie/associations/chaalis/techniqu.htm>

Académie de Nice, 2002: <http://www.ac-nice.fr/physique/parfum/solvant.htm>

ADEME, 2005:

http://www.ademe.fr/htdocs/publications/publipdf/sme_prodarom.pdf

CNDP, 2000: http://www.cndp.fr/gtd_phychim/pdf/ESEPC002.pdf

Bivea, 2004:

http://www.bivea.fr/info_bivea/pranarom/principe_extraction_huiles_essentielle_s.php

Université de Jussieu, 2004:

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/aromes/nature-arome/aromes.htm>

WEISS, 2002: <http://www.verdan.ch/ecole/ParfumDosPed.pdf>