



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère
De L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Larbi Tébessi –Tébessa-



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

**Domaine: Science de la Nature et
de la Vie Filière:**

Sciences biologiques

Option: Biochimie appliquée

**Méthodes d'extraction,
d'identification et purification des
huiles essentielles**

Présenté Par:

**ACHOUR Radja
AOUN Wassila
KHIEREDDINE Fouzia**

Devant le jury:

Dr	ZEGHIB Assia	Université – Tébessa	Président
Dr	SEGHIR Hanane	Université – Tébessa	Examinatrice
Dr	BELGUENDOZ Karima	Université – Tébessa	Promotrice

Date de soutenance : Le 09.06.2022

REMERCIEMENTS

Nous voudrions dans un premier temps remercier

Dieu de nous avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail.

Nous voudrions dans un premier temps remercier,

*Notre directrice de mémoire **Madame Belguendouz Karima,***

Pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils,

Qui ont contribué à alimenter notre réflexion

Et leur suivie qu'il nous a prodigué durant tous ce travail.

Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a attribué

*Les membres des jurys **Mme Zeghib Assia "présidente", Mme Seghir Hanane**
"examinatrice", notre travail.*

Enfin, On souhaite adresser nos remerciements

*Les plus sincères à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce
modeste travail, avec sincère d'un bon mot.*

DÉDICACE

*Au nom de dieu le miséricordieux, Je remercie mon **dieu** de m'avoir donné le courage pour accomplir ce modeste travail.*

Avec L'expression de ma reconnaissance, Je dédicace à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

*À mon cher papa **BOUBAKER**, ma précieuse offre de dieu, ma source de conseil, d'espoir et de motivation, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

*À ma chère mère **HOURIA**, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences, qui n'ont épargné aucun effort pour me rendre heureuse.*

*À mon chère frère **SAIF EDDINE**, qui était l'épaule solide, l'œil attentif compréhensif, et le plus digne de mon estime et de mon respect. Que dieu le protège et offre la santé et le bonheur.*

*À mes chères sœurs **AMEL, CHADIA, RACHA, KATAR ENADA**, qui connaissent comment me procurer la joie et le bonheur. Que dieu leurs donne une longue et joyeuse vie.*

*À mes belles nièces **DJINEN ELFERDAOUS** et **WEJDEN** pour leur pure amour et l'énergie positive qui m'ont donné.*

*Un remerciement exceptionnel à ma cousine "**NARIMENE**", qui était toujours à ma côté.*

*À mes chères amies **B.MAROUA, H.CHAIMA, G.ASMA, B.OUMAIMA, ET A.WASSILA** pour tous les beaux souvenirs, l'amour et le respect qu'on a partagé ensemble et à qui je souhaite plus de succès.*

*À mes chers binômes **WASSILA** et **RADJA** pour leurs soutiens moraux, leurs patiences, et leurs compréhensions tout au long de ce travail.*

*Je dédicace également à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à son élaboration; **NADJWA, DOUNIA, MANEL, RAWNEK, ROUMAÏSSA, MAROUA, SALMA** et **OUMAIMA**.*

FOUZLA

DÉDICACE

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes très chers parents, **mon père Mokhtar** et **ma mère Hellala**, vous êtes la vie et votre satisfaction est mon objectif et mon succès, merci beaucoup de tout mon cœur pour Votre amour et support continus. Je vous aime.*

*Mes chers frères et sœurs **Rabie, Aissa, Bilel, Said, Ilham, Hayette, wafa** et ma belle-sœur **Amira**.*

*Mes neveux, mes nièces **Ghayth, Abed El- Moumen, Sadin Abed El -Matin, Ishak, Sadil** et **Sadjida***

*Mes chères amies **Chaima, Djihane, Maroua, Asma, et Fouzia**, Merci pour chaque instant que j'ai passé avec vous je ne vous oublierai jamais.*

*À mes partenaires **Fouzia** et **Radja** merci à vous*

J'ai partagé avec elles les difficultés liées au suivi de notre travail.

Merci à tous ceux qui m'ont soutenu pendant mon parcours universitaire, même par un mot, un seul mot, ça compte beaucoup pour moi.

WASSILA

DÉDICACE

*A ma chère **Maman**, merci d'avoir été là à chaque étape de mes études et d'avoir facilité mon chemin jusqu'ici, je n'aurais pas pu y arriver sans toi.*

*A mon cher **Père**, source d'espoir, motivation et de joie.*

*A vous mon **Frère** et mes **Sœurs** qui m'avais toujours soutenu et encouragé durant ces années d'étude.*

*Enfin, je tiens à remercier tous ceux et celles qui de près et de loin ont été à mes côtés je remercie mes amis proches, **Wiam, Houria, Imane, Sonia, Nassira, et Hamid.***

RADJA

Sommaire	N°
Remerciement	/
Dédicace	/
Sommaire	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Liste des abréviations	VI
ملخص	VII
Abstract	VIII
Résumé	IX
Introduction	1
Chapitre I : Les huiles essentielles	
I. Généralité sur les huiles essentielles	5
II. Définition des huiles essentielles	6
III. Répartition, localisation, rendement et fonction des HEs	6
III.1. Répartition et localisation des HEs	6
III.2. Les rendements des HEs	8
III.3. Fonction des HEs	9
IV. Classification générale des HEs	9
V. Compositions chimiques	11
V.1. Les terpènes (ou terpénoïdes)	13
V.1.1. Les monoterpènes	15
V.1.2. Les sesquiterpènes	17
V.1.3. Les diterpènes	18
V.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane	19
V.3. Les composés d'origine divers	21
V.4. Les chémotypes	23
VI. Mode d'action des HEs	26
VII. Les principales propriétés des HEs	28
VII.1. propriétés physico-chimiques	29
VII.1.1 Propriétés physiques	29
VII.1.2. Propriétés chimiques	30
VII.2. Propriétés biologiques des HEs	30
VII.2.1. Propriétés anti-infectieuses	30
VII.2.2. Propriétés anti-inflammatoires	33
VII.2.3. Propriétés régulatrices du système nerveux	33
VII.2.4. Propriétés digestives	34
VII.2.5. Propriétés cicatrisantes	34
VIII. Les principales voies d'utilisation des HEs	35
VIII.1. La voie orale	35
VIII.2. La voie rectale	36
VIII.3. La voie cutanée	36
VIII.4. la voie respiratoire	37
IX. Paramètres influençant, composition quantitative et qualitative des HEs	37
IX.1. facteurs intrinsèques	37
IX.2. facteurs extrinsèques	38
X. Toxicité des HEs	38

XI. Les Domaines d'utilisation des HEs	40
XI.1. Dans l'industrie agroalimentaire	40
XI.2. En parfumerie et cosmétique	41
XI.3. En pharmacie	42
Chapitre II: Méthodes d'extraction des Huiles Essentielles	
I. Définition de l'extraction	45
II. Les méthodes d'extraction et l'obtention des HEs	45
II.1. Distillation	46
II.1.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau	47
II.1.2. Hydrodistillation	48
II.1.3. Distillation par les solvants organiques volatils	52
II.1.4. Distillation assistée par micro-ondes et ultrasons	55
II.1.4.1. Extraction par micro-ondes	55
II.1.4.2. Extraction par ultrasons	59
II.2. Extraction par expression à froid	61
II.3. Hydrodiffusion ou Percolation	62
II.4. Enfleurage	63
II.4.1. Enfleurage à froid	63
II.4.2. Enfleurage à chaud	64
II.5. Extraction par les fluides supercritiques	65
III. Conservation des huiles essentielles	69
Chapitre III: Méthodes de purification et identification des Huiles Essentielles	
I. Purification des HEs	71
I.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)	71
I.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)	75
I.3. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP)	77
II. Identification des HEs	80
II.1 Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM)	80
II.1.1. CPG/SM en mode Impact électronique (CPG/SM-IE)	81
II.1.2. CPG/SM en mode Ionisation Chimique (CPG/SM-IC)	81
II.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM	85
II.3. Les couplages CLHP-SM et CPG-CLHP-SM	86
II.4. Le couplage CLHP-RMN 1 H	87
II.5. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN	88
Conclusion	93
Références Bibliographiques	95

N°	Liste des tableaux	page
01	résumé des principales familles biochimiques, leurs propriétés pharmacologiques et des exemples d'huiles essentielles dans lesquelles elles sont présentes.	24
02	la différence entre l'Hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau.	51
03	Comparaison entre les méthodes d'extraction conventionnelles et celles assistées par micro-ondes.	59
04	Données de la littérature de quelques HEs extraites par HD et SFME.	68
05	Conditions opératoires de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).	73
06	Analyse par CPG de l'H.E de graines de coriandre.	74
07	Programmation des taux de solvants utilisés au cours de l'analyse par CLHP.	79
08	Conditions opératoires de l'analyse en CG/SM.	83

N°	Liste des figures	page
01	Une unité d'isoprène.	14
02	Le collage entre les unités d'isoprènes.	14
03	Structures chimiques des mono terpènes.	16
04	Monoterpènes présents dans l'huile essentielle d' <i>Artemisiacampestris</i> .	17
05	Structure de quelques composés des huiles essentielles (sesquiterpènes)	18
06	Sesquiterpènes présents dans l'huile essentielle d' <i>Artemisiacampestris</i> .	18
07	Quelques composés aromatiques isolés d' <i>Artemisiacampestris</i>	20
08	Structure d'un aromatique.	20
09	Exemples de structures de composés dérivés du phénylepropane.	21
10	Les différents constituants d'huiles essentielles.	22
11	Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne.	27
12	Méthodes d'extraction des huiles essentielles.	46
13	Distillation à la vapeur d'eau.	48
14	Schéma du principe de la technique d'hydro distillation.	50
15	Montage d'Hydrodistillation de type Clevenger dans le laboratoire.	50
16	Montage d'extraction par solvant.	54
17	Extracteur de soxhlet.	54
18	Schéma du procédé d'extraction par un solvant volatil.	55
19	Extraction sans solvant assisté par micro-ondes.	57
20	L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO).	58
21	Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore.	60
22	Schéma du procédé d'expression.	62
23	Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid.	62
24	Schéma du procédé d'Hydrodiffusion.	63
25	Schéma du procédé d'enfleurage.	64
26	Schéma de la technique Extraction par les fluides supercritique.	66
27	Avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction conventionnels innovants	67
28	flacon sombre pour la conservation des huiles sensibles à la lumière.	69
29	Chromatographie en phase gazeuse.	72
30	Chromatogramme analytique de l'H.E des graines de coriandre, obtenu par CPG.	73

31	Chromatogramme typique obtenu par CG-DIF de l'huile essentielle.	74
32	Illustration d'une CCMHP.	77
33	La chromatographie liquide à haute performance.	78
34	Chromatogramme de l'huile essentielle de bergamot par HPLC	79
35	Schéma de couplage CPG/SM.	82
36	Chromatogramme d'huile essentielle	84
37	Un chromatogramme typique a été obtenu par CG-SM.	85
38	Identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du carbone-13.	91

Liste des abréviations

HE : l'huile essentielle.

HD : Hydrodistillation.

CCM : Chromatographie sur couche mince.

CLHP: La chromatographie liquide à haute performance.

CPG: Chromatographie sur phase gazeuse.

RMN: La Résonance Magnétique Nucléaire.

IR: infrarouge.

SM: spectrométrie de masse.

MH: la masse d'huile essentielle en gramme.

Mmv : la masse de la matière végétale (sèche ou fraîche) utilisée en gamme.

RHE: rendement en huiles essentielles.

SFME: Solvent Free Microwave Extraction.

ESSAM: L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes.

ESMO : L'extraction par solvant assistée par micro-ondes.

CCMHP: chromatographie sur couche mince de haute performance.

IE: ionisation électronique.

IC: ionisation chimique.

ICP: ionisation chimique positive.

ICN: ionisation chimique négative.

IRTF: infrarouge par transformée de Fourier.

Résumé

الملخص

الزيوت الأساسية هي مواد طيارة تنتجها النباتات، لديهم العديد من الفضائل العلاجية لذلك يتم استخدامها بشكل متزايد، حيث يبحث المستخدم في الوقت الحاضر عن المزيد من المنتجات الطبيعية. لكن على الرغم من استخدام هذه الزيوت، إلا أن خطر الإصابة بالتسمم قائم.

يتم استخدام العديد من التقنيات لاستخراج المواد العطرية، حيث تهدف هذه العملية الأكثر صعوبة والأكثر دقة إلى التقاط الجزيئات الطيارة للزيت، وذلك مع الحرص على تجنب تغيير جودته، لذلك يجب على طرق الاستخلاص مراعاة تكاليف الإنتاج المرتبطة بالعائد والوقت المستغرق والمعدات المستخدمة بالإضافة إلى حل الصعوبات على أكمل وجه ممكن من أجل الحصول على مستخلصات عالية الجودة، في هذه الدراسة تطرقنا إلى معظم طرق الاستخلاص للزيوت الأساسية (التقطير المائي، الاستخلاص بالمذيبات، الاستخلاص بمساعدة المكروويف... الخ)

وفقاً لدراستنا المتطرفة إلى تبخر مكونات الزيوت الأساسية أثبتت كروماتوغرافيا الغاز على الأعمدة الشعيرية أنها أكثر طرق التجزئة كفاءة، وهذا راجع لسهولة التنفيذ، ووقت التحليل القصير نسبياً، وموثوقية النتائج وإمكانية جعل العملية آمنة، حيث تجعلها تقنية مناسبة بشكل خاص للتحليلات الكمية والنوعية للزيوت الأساسية، بالإضافة إلى أنه يمكن إجراء هذه الطريقة التحليلية بالاقتران مع كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة أو يمكن تقترن بقياس الطيف الكتلي. يمكن أيضاً استكمال كروماتوغرافيا الغاز بالطرق الطيفية: الأشعة تحت الحمراء والرنين المغناطيسي النووي للكربون 13 والبروتون 1.

الكلمات المفتاحية: الزيوت العطرية، طرق الاستخلاص، التقطير المائي، تنقية، CPG، تحديد، .RMN

Abstract

Essential oils are volatile substances produced by plants. They have many therapeutic virtues. They are therefore used more and more, as the public is nowadays looking for more natural products. Despite the excessive use of these oils, but their risk of intoxication is very present.

Many techniques are used for the extraction of the aromatic substances. Particularly difficult, and of the most delicate, this operation aims at capturing the products elaborated by the plant; and that, while taking care to avoid deteriorating the quality of it. The techniques of extraction must thus, while taking into account the costs of obtaining related to the output, the time spent and the material used, aim at solving the difficulties as well as possible with an aim of obtaining extracts of high quality, i.e., the closest possible to the original essence, In this study, we discuss the majority of the methods of extraction of essential oils (hydrodistillation, solvent extraction, microwave-assisted extraction, etc.)

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version) Thus, given the volatility of the constituents of essential oils, gas chromatography on capillary columns, is the most efficient method of fractionation. Its ease of implementation, its short analysis time, the reliability of the results and the possibility of automation of the process, make it a technique particularly adapted to the quantitative and qualitative analyses of essential oils. This analytical method can be conducted in conjunction with thin layer chromatography or can be coupled with mass spectrometry. Gas chromatography can also be complemented by spectral methods: IR, proton and carbon 13 NMR.

Keywords: essential oils, extraction methods, hydrodistillation, purification, CPG, identification, NMR.

Résumé

Les huiles essentielles sont des substances volatiles produites par les végétaux. Elles présentent de nombreuses vertus thérapeutiques. Elles sont de ce fait, de plus en plus utilisées, le public recherchant de nos jours des produits plus naturels. Malgré le recours excessif à ces huiles, mais leur risque d'intoxications est bien présent.

De nombreuses techniques sont utilisées pour l'extraction des substances aromatiques. Particulièrement difficiles, et des plus délicates, cette opération a pour but de capter les produits élaborés par le végétal ; et cela, tout en veillant à éviter d'en altérer la qualité. Les techniques d'extraction doivent donc, tout en tenant compte des coûts d'obtention liés au rendement, au temps passé et au matériel utilisé, viser à résoudre au mieux les difficultés dans le but d'obtenir des extraits de haute qualité, c'est-à-dire, les plus proche possible de l'essence originelle, Dans cette étude, nous discutons de la plupart des méthodes d'extraction des huiles essentielles (hydrodistillation, extraction par les solvants, extraction assisté par micro-onde...ect)

D'après notre étude, compte tenu de la volatilité des constituants des huiles essentielles, la chromatographie en phase gazeuse sur colonnes capillaires se révèle être la méthode de fractionnement la plus efficiente. Sa facilité de mise en œuvre, son temps d'analyse assez court, la fiabilité des résultats et la possibilité d'automatisation du processus, en font une technique particulièrement adaptée, aux analyses quantitative et qualitative des huiles essentielles. Cette méthode analytique peut être menée conjointement avec la chromatographie sur couche mince ou peut être couplée à la spectrométrie de masse. La chromatographie en phase gazeuse peut également être complétée par les méthodes spectrales: IR, RMN du proton et du carbone 13.

Mots clé : les huiles essentielles, méthodes d'extractions, hydrodistillation, purification, CPG, identification, RMN.

Introduction

Les huiles essentielles (HE) sont utilisées depuis des milliers d'années dans diverses cultures à des fins médicinales et de santé (**Ansah Herman *et al.*, 2019**). Elles continuent d'être d'une importance capitale jusqu'à nos jours (**Djilani *et al.*, 2012**). Ce sont des composés complexes qui se caractérisent par une forte odeur et sont formés à partir de divers métabolites végétaux. Elles sont limpides et solubles dans les solvants lipidiques/organiques et possèdent une densité inférieure à celle de l'eau, et aussi sont des liquides hydrophobes concentrés contenant des composés volatils (facilement évaporés à température ambiante) (**Kar *et al.*, 2018**). Ce sont des produits végétaux naturels intéressants et puissants (**Djilani *et al.*, 2012**), elles sont abondamment présentes dans les organes végétaux comme les bourgeons, les tiges, les racines, les graines, les fruits, les fleurs, les feuilles, les brindilles, le bois ou l'écorce et ainsi stockées dans les canaux, les cellules sécrétoires, cavités, cellules épidermiques (**Kar *et al.*, 2018**). Les composants principaux de ces huiles sont des terpénoïdes (terpènes) qui sont synthétisés à partir d'isoprène (**Bansal *et al.*, 2016**) et les composés aromatique de dérivés du phenylpropane (composés phénoliques), également les composés d'origine divers (**Labiod, 2016**). Les HEs possèdent des propriétés antidépressives, stimulantes, détoxifiantes, calmantes, antibactériennes et antivirales et ont été sélectionnées comme une source potentielle de nouveaux composés antimicrobiens, des alternatives aux conservateurs chimiques dangereux et des agents favorisant la conservation des aliments (**Herman *et al.*, 2019**). Dans la nature, les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes comme antibactérien, antiviral, antifongique, insecticide et aussi contre les herbivores, réduisant leur appétit pour ces plantes (**León-Méndez *et al.*, 2018**). Plusieurs insectes sont attirés vers le parfum des huiles essentielles produites par les plantes et aide à la dispersion des graines et des pollens (**Kar *et al.*, 2018**).

Extraire l'essence de la plante n'est pas aisé, car l'extraction des l'huiles essentielles (HEs) est forcément un processus complexe et délicat. Il est destiné à capter et collecter les produits les plus volatils, délicats et fragiles fabriqués par les plantes, sans en altérer la qualité (**Lahlou, 2004**). Diverses méthodes d'extraction des essences végétales sont réalisées, cette variété est due à la polyvalence des substances et à la grande sensibilité de leurs composants spécifiques. La méthode la plus appropriée est choisie en fonction de la nature du matériel végétal à traiter, des propriétés physiques et chimiques de l'essence à extraire et de l'utilisation de l'extrait. La plupart des procédés d'extraction utilisent des solvants volatils, c'est-à-dire des substances capables de dissoudre d'autres substances

(hydrocarbures et alcools), suivie d'une distillation, est largement utilisée en parfumerie sous forme d'essences "concrètes" et dites "absolues" (solubles dans l'alcool à froid) (**Franchomme, 2015**). Il y a des cas où l'instillation est pratiquée, c'est-à-dire l'extraction avec une substance grasse, qui se sature avec la substance. Le corps gras est appauvri en alcool absolu, puis le solvant est évaporé sous vide. De manière générale, les huiles essentielles sont extraites des matières végétales soit par simple Hydrodistillation, qui est la méthode la plus répandue, soit par distillation à la vapeur d'eau. Il existe d'autres méthodes d'extraction plus rapides, applicables à l'échelle industrielle, qui souvent de quoi donner des huiles essentielles de grande qualité. C'est le cas de l'extraction par micro-ondes et des liquides supercritiques (principalement par le dioxyde de carbone supercritique), ou encore des volatils des plantes aromatiques très solubles dans le dioxyde de carbone supercritique, à température et pression modérées (**Udaya-Sankar, 1989 ; Hawthorn, 1993 ; Menasri et Kais, 2021**).

Les huiles essentielles sont composées de plusieurs dizaines, voire centaines, de composés différents. Leurs propriétés étant étroitement liées à leur composition chimique. Les progrès des méthodes analytiques permettent aujourd'hui d'identifier un grand nombre de composants de manière relativement simple et rapide, ce qui offre la possibilité de contrôler que l'échantillon a bien le profil chimique attendu, mais également d'étudier les relations structure- activité qui existent au sein de l'huile essentielle. Il existe plusieurs méthodes analytiques rendant possibles l'étude de la composition chimique d'un échantillon, certaines sont plus adaptées à la séparation des composants des extraits aromatiques.

Le mélange est d'abord fractionné par différentes techniques chromatographiques, telles la chromatographie sur couche mince (CCM), la CLHP et la CPG. Les différents constituants isolés sont ensuite identifiés par comparaison de leurs données spectrales avec celles de composés de références: spectre de masse, spectre IR, spectres de RMN du 13 C. Cette voie est extrêmement fiable et permet d'identifier les composés présents dans les mélanges naturels comme les huiles essentielles. Les HEs est une matière d'importance économique considérable avec un marché en constante croissance. En effet, elles sont commercialisées et présentent un grand intérêt dans divers secteurs industriels comme en pharmacie par leurs pouvoirs antiseptique, analgésique, antispasmodique, apéritif, antidiabétique..., en alimentation par leur activité anti-oxydante et leur effet aromatisant, en parfumerie et en cosmétique par leur propriété odoriférante.

Dans notre recherche bibliographique, nous avons détaillés les différentes techniques concernant l'extraction, la séparation et l'identification des différents composés des huiles essentielles.

Chapitre I :
Les huiles essentielles

I. Généralité sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles nommées également substances organiques aromatiques liquides ou essences végétales sont des substances peu colorés dégageant une odeur caractéristique et possèdent des saveurs généralement fortes. Ce sont des produits de composition passablement complexe de métabolites secondaires renfermant des principes volatils et sensibles à l'effet de la chaleur. Ainsi, volatiles à température ambiante (**Touati et Mahmoudi, 2017 ; Bentahar et Lamri, 2018**), les HEs sont des produits huileux qui se différencient des huiles grasses grâce à leurs propriétés physiques et leur composition, leurs taches sur le papier sont passagères (**Miloud, 2010**). Elles ne contiennent pas de corps gras celui que les huiles végétales obtenues avec des pressoirs comme l'huile de tournesol, l'huile de maïs, l'huile d'amande douce.... Etc (**Guerrouf, 2017**). Elles sont généralement plus légères que l'eau grâce à leurs caractéristiques hydrophobes (**Bentahar et Lamri, 2018**).

Les huiles essentielles sont contenues le plus souvent dans les végétaux supérieurs (**Miloud, 2010**). Elles sont synthétisées depuis des cellules sécrétrices des plantes aromatiques (**Djaalali et Bayoud, 2020**). Elles se trouvent naturellement dans différentes parties des arbres, des plantes et des épices sous forme de minuscules gouttelettes, présentent en petite quantité par rapport à la masse du végétale (**Touati et Mahmoudi, 2017 ; Djebri et Douib, 2020**). Elles sont obtenues à partir des feuilles, des graines, des bourgeons, des fleurs de brindilles, d'écorces, des bois, des racines, des tiges ou peau de fruits cependant aussi à partir des gommés qui s'écoulent du tronc des arbres (**Guerrouf, 2017**).

Il y a nombreux avantages aux huiles essentielles. Elles trouvent leur place dans la plupart des civilisations à des fins religieuses, aromathérapie, pharmacie, médicale, parfumerie, cosmétique et dans la conservation des aliments. Également ces extraits de plantes ont une grande importance dans le commerce international (**Djebri et Douib, 2020 ; Hafdallah et Khalfi, 2020**).

Les huiles essentielles se définissent par (**Guerrouf, 2017**) :

- Leur nom latin qui précise l'espèce botanique et évite les confusions.
- La partie ou organe dont est tirée l'huile essentielle : racines, feuilles, fleurs, graines.

- Son mode d'obtention : distillation à la vapeur d'eau ou expression....
- Le chémotype ou principe actif caractéristique qui donne les effets physiologiques majeurs.

II. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles ou HEs, sont définies par des huiles volatiles, de parfums, etc., sont des substances odorantes huileuses, volatiles, peu solubles dans l'eau, plus ou moins solubles dans l'alcool et dans l'éther, incolores ou jaunâtres, inflammables qui s'altèrent facilement à l'air en se résinifiant. Elles sont liquides à température ordinaire ; quelques-unes sont solides ou en parties cristallisées ; elles n'ont pas le touché gras et onctueux des huiles fixes dont elles se distinguent par leur volatilité. Leur odeur est plus ou moins forte, piquante ou désagréable. Elles ont la propriété de ne pas laisser de tache durable sur le papier (**Larousse des plantes médicinales, 2001**).

Les huiles essentielles sont des mélanges de plusieurs compositions qui sont des molécules peu complexes comme les terpènes, les phénols, les méthyle-éthers, les oxydes, les esters, les cétones... (**Taleb-Toudert, 2015**).

Elles sont définies comme étant des extraits volatils et odorants, qui se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire (**Hellal, 2011**).

III. Répartition, localisation, rendement et fonction des HEs

III.1. Répartition et localisation des HEs

Selon **Lakhdar (2015)**, les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal par contre selon **Latreche (2021)**, les HEs n'ont pas une présence générale chez les végétaux. Parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10% seulement sont dites «aromatiques», et elles synthétisent et sécrètent des insignifiantes quantités d'essence aromatique (**Latreche et Mansor, 2021**). Les huiles essentielles n'existent presque que chez les végétaux supérieurs, elles sont quasiment exclusivement de l'embranchement des spermaphytes (**Souane et Kechroud, 2020**). Les plantes capables de faire les constituants qui composent ces huiles essentielles sont connues sous le nom de plantes aromatiques, et réparties dans un nombre limité de familles (**Lamamra, 2018**), telles que : *les Conifères, les Rutacées, les ombellifères, les Myrtacées, les Lamiacées, les Poacées, Lauracées,*

Astéracées, Apiacées, Cupressacées, Zingibéracées, Pipéracées, etc. (Lakhdar, 2015 ; Lamamra, 2018 ; Latreche et Mansor, 2021).

Les huiles essentielles sont produites par des cellules végétales spécialisées, elles sont présentes dans différents organes végétaux producteurs, variant selon la zone productrice du végétal (Lakhdar, 2015 ; Labiod, 2016 ; Laurent, 2017 ; Bentahar et Lamri, 2018 ; Lamamra, 2018 ; Souilah, 2018 ; Bouaziz et Nasrallah, 2020 ; Djebri et Douib, 2020 ; Latreche et Mansor, 2021). Ainsi, elles sont produites au niveau de :

- **Les sommités fleuries** (ex : Lavande, Menthe) ;
- **Les organes souterrains** les racines (ex : Vétiver, Angélique), les rhizomes (ex : Gingembre, Curcuma, Acore) ;
- **Le bois et les écorces** (ex : Cannelle, Santal, Bois de rose, Camphrier) ;
- **Les fruits** (ex : Citron, Épicarpes des citrus, Anis, Fenouil, Badiane) ;
- **Les feuilles** (ex : Citronnelle, Eucalyptus, Menthe, Thym, Laurier, Sarriette, Sauge, Aiguilles de Pin et Sapin) ;
- **Les graines** (ex : Noix de muscade, Anis, Coriandre) ;
- **Les fleurs** (ex : Camomille, Lavande, Oranger, Rose, le Bouton floral (Girofle) ou les Bractées (Ylang-Ylang)) ;
- **Les zestes** (ex : Citron, Orange, Bergamote).

Elles sont synthétisées par des glandes sécrétrices qui sont présentes sur quasiment toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées dans le cytoplasme de certaines cellules ou se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la majorité des substances lipophiles. Sur le site de stockage, les gouttelettes d'huile essentielle sont entourées de membranes spéciales composées d'esters d'acides gras hydroxylés hautement polymérisés associés à des groupements peroxydes (Djebri et Douib, 2020).

La synthèse et l'accumulation des HEs sont en générale liées à la présence de structures histologiquement spécialisées, localisées dans certains points des tissus, et le plus fréquemment sur ou à proximité de la surface de la plante. On retrouve par exemple (Fabre, 2017 ; Bouaziz et Nasrallah, 2020 ; Djebri et Douib, 2020):

- **Les cellules à huiles essentielles** : chez *les Lauracées* et *les Zingiberacées*.
- **Les poils sécréteurs** : externes (*La biaceae, Graniaceas*) ou internes (*Eucalyptus*).
- **Les poches sécrétrices** : chez *les Myrtacées* et *les Rutacées*.

- **Les canaux sécréteurs :** (*Ombellifères, Conifères*).
- **cellules sécrétrices isolées :** (*Lauraceae, Zingibeaceae*) pouvant épidermiques ou internes.

III.2. Les rendements des HEs

Les teneurs en huiles essentielles sont en générale très faibles, il faut quelquefois plusieurs tonnes de plantes pour obtenir un litre d'huile essentielle. Le rendement peut se changer de 1 à 10 %, à l'exception, de celle du Bouton florale du Giroflier où le rendement en atteint largement les 15% (**Djebri et Douib, 2020**), ou la Noix de muscade, 5-15%. Plusieurs types de végétaux contiennent des huiles essentielles ou des substances rapprochés mais en pratique peu d'espèces sont utilisables (**Labiod, 2016**). Les rendements d'extraction des huiles essentielles détachent des techniques et procédés d'extraction et de la période de vendange (**Bouaziz et Nasrallah, 2020**). Les parties sécrétrices ou les plus concentrées de la plante sont récoltées à la période de rendement optimum : avant la floraison (Menthes), pendant (Romarin, Lavande) et après celle-ci (plantes à graines et fruits) (**Bouaziz et Nasrallah, 2020**).

En fait, pour obtenir quelques grammes d'essence, il faut une grande quantité de matière végétale, comme exemple, pour 100kg de plantes, l'on obtient (**Djebri et Douib, 2020**)

- Eucalyptus : 3kg d'essence.
- Genièvre: de 0.500 à 1.2kg.
- Hysope : 400g.
- Ylang-ylang : 1.5kg.

Le rendement en huiles essentielles (**RHE**) conformément à **Djazer (2014)** est le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction (**MH**) et la masse de la matière végétale utilisée (**Mmv**) sèche ou fraîche.

Le rendement est exprimé en pourcentage et donné par l'équation suivante :

$$\text{RHE}(\%) = \text{MH} / \text{Mmv}$$

- **MH** : la masse d'huile essentielle en gramme.
- **Mmv** : la masse de la matière végétale (sèche ou fraîche) utilisée en gramme.
- **RHE** : rendement en huiles essentielles.

III.3.Fonction des HEs

Plusieurs plantes produisent les HEs comme métabolites secondaires, mais leur rôle précis dans les processus de la vie de la plante est inconnu. Elles sont généralement considérées en tant que des déchets du métabolisme ou des sous-produits de l'activité métabolique d'une plante (**Latreche et Mansor, 2021**). Néanmoins, beaucoup des effets apparents utiles ont été décrits telles que leurs rôles : en tant qu'attractif vis-à-vis des insectes pollinisateurs et consolideraient ainsi la pollinisation, hormonal, régulateur, catalyseur dans le métabolisme végétal et semblent assister la plante à s'adapter à son environnement (**Lamamra, 2018**).

Elles ont également probablement un rôle défensif tels que la protection du bois contre les insectes et les champignons, action répugnant contre les animaux herbivores (**Bentahar et Lamri, 2018**) ainsi que, la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) au moyen d'inhibition chimique de la germination des graines (**Lamamra, 2018**) et constituer des supports à une communication à grâce de leur variété structurale qui autorise le transfert de messages biologiques sélectifs. On peut considérer l'huile en tant que source énergétique : « dans le cas mis en réserve au cours le jour, dégradés à la nuit en acétylCoA» (**Latreche et Mansor, 2021**). Les huiles essentielles des plantes désertiques sont utiles à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques permettent de maintenir la saturation de l'air autour de la plante pour éviter, de jour, la température de l'air de monter jusqu'à un degré insupportable pour la vie végétale et la nuit de baisser de façon énorme (**Lamamra, 2018**).

IV. Classification générale des HEs

La classification des HEs selon la famille biochimique constitue un préalable pour comprendre leurs propriétés thérapeutiques et les utiliser au mieux en toute sécurité (**Aribi-Zouioueche et Couic-Marinier, 2021**). Elles sont classées de façon quasi exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques (**Athamnia et al., 2018**) sont :

- **Terpénoïdes.**
- **Composés aromatiques dérivés du phénylpropane.**

Conformément au pouvoir spécifique sur les germes microbiens et grâce à l'indice aromatique parvenue par des aromatogrammes, les huiles essentielles sont triées en groupes, on peut citer (**Benikhlef, 2014**) :

- **Les huiles majeures** : nommées aussi "essence de germe", influent sur les bacilles G+ et G-, leur action est constante et forte, et sont toujours efficaces.
- **Les huiles médiums** : moyennement antiseptiques, elles se placent entre les huiles majeures et celles spécifiques pour chaque germe.
- **Les huiles terrains** : des huiles qui n'ont aucune action.

Les huiles essentielles sont classées habituellement conformément à la nature chimique des principes actifs majeurs, plus rarement sur la méthode d'extraction, ou les effets biologiques (pharmacologique, cosmétologique ou sanitaire). On distingue neuf classes principales (les carbures sesquiterpéniques et terpéniques, les alcools, les esters et alcools, les aldéhydes, les cétones, les phénols, les éthers, les peroxydes et les sulfurés)

- **Carbures terpéniques et sesquiterpéniques**
 - Huile essentielle de Térébenthine : alpha-Pinène, Camphène
 - Huile essentielle de Genévrier : alpha-Pinène, Camphène, Cadinène
 - huile essentielle de Citron : Limonène
- **Alcools**
 - Huile essentielle de Coriandre : Linalol
 - Huile essentielle de Bois de rose : Linalol
 - Huile essentielle de Rose : Géraniol
- **Mélange d'esters et d'alcools**
 - Huile essentielle de Lavande : Linalol, Acétate de linalyle
 - Huile essentielle de Menthe : Menthol, Acétate de menthyle
- **Aldéhydes**
 - Huile essentielle de Cannelle : Aldéhyde cinnamique
 - Huile essentielle de Citronnelle : Citral et Citrannal
 - Huile essentielle d'Eucalyptus citriodora : Citronellal
- **Cétones**
 - Huile essentielle de Carvi : Carvone
 - Huile essentielle de Sauge : Thuyone
 - Huile essentielle de Thuya : Thuyone

- Huile essentielle de Camphrier : Camphre
- **Phénols**
- Huile essentielle de Thym : Thymol
- Huile essentielle de Sarriette : Carvacrol
- Huile essentielle d'Origan : Thymol et Carvacrol
- Huile essentielle de Girofle : Eugénol
- **Éthers**
- Huile essentielle d'Anis vert, de Badiane : Anéthol
- Huile essentielle de Fenouil : Anéthol
- Huile essentielle d'Eucalyptus globulus : Eucalyptol
- Huile essentielle de Cajeput : Eucalyptol
- Huile essentielle de Niaouli
- **Peroxydes**
- Huile essentielle de Chénopode : Ascaridol
- Huile essentielle d'Eucalyptus globulus : Eucalyptol
- **Sulfurées**
- Huile essentielle d'Ail : Allicine (Diallyl Disulfide et Trisulfide)
- Huile essentielle de Crucifères et de Liliacées

V. Compositions chimiques

Les huiles essentielles sont constituées de mélanges très complexes (**Charik et Kadri, 2020**) et se caractérisent par une composition chimique analysable et extrêmement variable (**Lamamra, 2018**). Ces compositions sont déterminées au moyen de la chromatographie sur phase gazeuse (**CPG**) et spectrométrie de masse (**SM**) (**Touati et Mahmoudi, 2017**). Au contraire à ce que son nom laisse présumer, les huiles essentielles pures et naturelles ne contiennent aucun corps gras, également ne contiennent ni vitamine, ni sels minéraux, mais elles peuvent aider leur absorption et leur assimilation par l'organisme (**Guerrouf, 2017**). Pour comprendre comment fonctionne les huiles essentielles et quelles sont leurs propriétés, il est important de savoir les molécules qui la composent (**Koziol, 2015**). Elles peuvent contenir plus de 300 composés chimiques divers (**Labioud, 2016**), et présentes aussi des composés minoritaires et un certain nombre de constituants sous forme de traces (**Kerbouche, 2010**). Ces compositions chimiques peuvent diverger selon l'organe, les facteurs climatiques, la nature du sol, les pratiques

culturelles et les modes et les opérations de traitement pour l'extraction (Ouis, 2015), mais essentiellement de la composition de l'essence produite par la plante, celle-ci étant fonction de facteurs environnementaux mais surtout du patrimoine génétique de la plante (Deschepper, 2017). Les composants des HEs sont génériquement dits « aromatiques » à cause de leur caractère odoriférant et non pour signaler leur structure chimique, ce qui peut provoquer une confusion (Kerbouche, 2010).

Les huiles essentielles sont en générale constituées de nombreux constituants (Guenez et Bakhouche, 2020), qui appartenant principalement et de façon exclusivement à deux groupes de composés caractérisés par leurs odorants distincts (Djazer, 2014 ; Djaalali et Bayoud, 2020), leurs volatilités et également par des origines biogénétiques distincts (Djazer, 2014 ; Labiod, 2016). Les constituants des HEs sont réparties en deux groupes en fonction de leur voie de biosynthèse et la voie métabolique empruntée ou utilisée (Djaalali et Bayoud, 2020; Charik et Kadri, 2020) : les terpénoïdes ou terpènes (composés terpéniques: mono et sesquiterpènes), dominants dans la plupart des essences (Djaalali et Bayoud, 2020), et les phényl propanoïdes (les composés aromatiques dérivés du phényl propane), moins dominants (Lamamra, 2018). Selon Ouis (2015), Abid (2020), Latreche (2021), les huiles essentielles sont constituées surtout par : Les composés terpéniques (Monoterpènes, Sesquiterpènes), Les composés aromatiques et composés d'origines diverses.

Autrement dit et de façon générale, les huiles essentielles sont des mélanges extrêmement complexes de molécules organiques appartenant aux classes les plus diverses. Ces molécules sont en générale des (Kerbouche, 2010) :

- **Hydrocarbures :**

Au sein de ce groupe, on distingue les hydrocarbures aromatiques, monoterpéniques (C10) et sesquiterpéniques (C15) et plus ou moins souvent diterpéniques (C20)...etc. Quelques fois, on rencontre des hydrocarbures saturés (heptane, octane, nonane, etc.).

- **Composés oxygénés :**

A l'intérieur de ce groupe on retrouve des alcools aliphatiques et cycliques, saturés et insaturés, des éthers oxydes, des phénols, des aldéhydes, des cétones, des esters, des acides, des aldéhydes -phénols, des lactones, des composés sulfurés.

V.1. Les terpènes (ou terpénoïdes)

Les terpènes sont des molécules organiques proprement dit, des hydrocarbonés naturels (Guenez et Bakhouche, 2020), de structures très variées soit cyclique (monocycliques, bicycliques ou tricycliques...), soit à chaîne ouverte (acycliques) (Ouis, 2015 ; Labiod, 2016). Ils sont des composés par l'assemblage d'un nombre variable d'unités d'isoprène de formule brute $(C_5H_8)_n$ (figure 01) en tant que leur structure de base (Jouault, 2012), ces unités peuvent se lier entre elles au moyen des liaisons dites irrégulières de type artémésyl, santolinyl, lavandulyl et chrysanthémyle (Ouis, 2015). Et ce collage entre elle se fait en attachant la tête à la queue (figure02) (Menasri et Kais, 2021). Selon le nombre répétitif de cette unité, les terpènes sont subdivisés en : les hémiterpènes ($n=1$) ; les monoterpènes ($n=2$) ; les sesquiterpènes ($n=3$) ; les triterpènes ($n=6$) qui, par oxydation, conduisent à de plusieurs résines; les tetraterpènes ($n=8$) qui conduisent aux caroténoïdes (Touati et Mahmoudi, 2017 ; Menasri et Kais, 2021) ; et les polyterpènes ont pour formule générale $(C_5H_8)_n$ où n peut être de 9 à 30 (Ouis, 2015). Les constituants des huiles essentielles sont principalement les monoterpènes (C_{10}) et les sesquiterpènes (C_{15}) et peu souvent de diterpènes (C_{20}) (Ouis, 2015). Seulement les monoterpènes C_{10} et les sesquiterpènes en C_{15} peuvent être extraits au moyen distillation, mais les autres terpènes (diterpènes en C_{20} et triterpènes en C_{30}) n'étant pas entraînés par la vapeur d'eau (Menasri et Kais, 2021).

Les terpènes sont les plus volatiles uniquement dans le cas des HEs, soit ceux dont la masse moléculaire n'est pas élevée (Djazer, 2014). Et ils possèdent généralement des effets thérapeutiques passablement faibles, mais ils complètent les actions des composants plus actifs (Jouault, 2012). Également, ils ont des propriétés biologiques importantes comme des propriétés fongicides ou insecticides (Latreche et Mansor, 2021). Ils présentent en générale une toxicité cutanée modérée : irritation, rougeur, chaleur (Jouault, 2012). Ils sont classés selon (Lakhdar, 2015) :

- **leurs fonctions** : alcools (Géranol, Linalol), esters (Acétate de linalyle), aldéhydes (Citral, Citronellal), cétones (Menthone, Camphre, Thuyone), éthers-oxydes (Cinéole);
- **Leur structure** : linéaire (Farnésène, Farnésol) ou cyclique : monocyclique (Humulène, Zingiberène), bicyclique (Cadinène, Caryophyllène, Chamazulène) ou tricyclique (Cubébol, Patchoulol, Viridiflorol).

Les terpénoïdes sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhydes, cétone, acide) (Labiod, 2016), et dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires (avec les flavonoïdes et les alcaloïdes) (Guenez et Bakhouch, 2020).

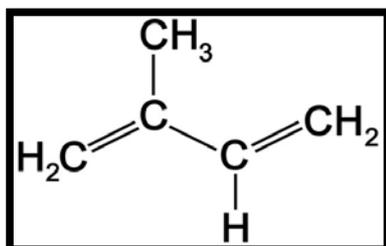


Figure01 : Une unité d'isoprène (Jouault, 2014).

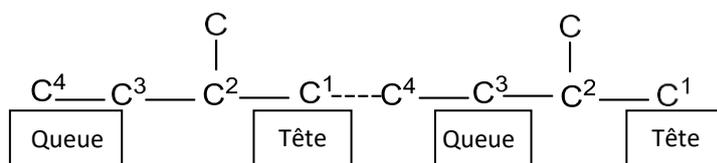


Figure02 : Le collage entre les unités d'isoprènes (Ouis, 2015).

V.1.1. Les monoterpènes

Les monoterpènes (**figure 03**) sont hydrocarbures aliphatique saturés ou insaturés (**Mecheri et Hammouchène, 2020**), autrement dit, sont les terpènes les plus fréquents, et les plus simples (**Mayer, 2012 ; Latreche et Mansor, 2021**). Ils forment 90% des huiles essentielles (**figure 04**) (**Lakhdar, 2015**) et constitués de deux unités d'isoprène couplées entre elles, selon le mode de couplage « tête-queue », et leur formule chimique brute est ($C_{10}H_{16}$) (**Jouault, 2012 ; Guenez et Bakhouche, 2020**). Il existe plus de 900 monoterpènes connus peuvent être classés principalement dans 3 catégories structurelles : les monoterpènes linéaires (acyclique), les monoterpènes avec un seul cycle (monocycliques) et avec deux cycles (bicycliques) (**Guenez et Bakhouche, 2020**). Ils peuvent renfermer des atomes d'oxygènes (**Mecheri et Hammouchène, 2020**), ils sont volatils, entraînables à la vapeur d'eau et d'odeur souvent agréable (**Labioud, 2016**). Ils ont plusieurs rôles tels qu'antiseptiques, stimulants, stimulants digestifs, antiviraux et sont de puissants décongestionnants respiratoires et lymphatiques (**Attou, 2017**). Ces terpènes se rattachent quelques nombre de molécules caractérisées par plusieurs fonctions chimique différentes, et ce qui justifie la réactivité des cations intermédiaires (**Lakhdar, 2015 ; Labioud, 2016 ; Lamamra, 2018**) :

✚ **Carbures:** peuvent être de structure acyclique, monocyclique ou bicyclique:

- **Acyclique:** ex : « Myrcene », « Ocimene », etc.
- **Monocyclique:** ex : « Terpinenes », « p-Cimene », « Phellandrenes », etc.
- **Bicyclique:** ex : « Pinenes », « Camphene », « Sabinene », etc.

Ex: **Huile essentielle de térébenthine:** contient « alpha-Pinène » et « Camphene ».

✚ **Alcools:**

- **Acyclique:** ex : « Geraniol », « Linalol », « Citronellol », « Lavandulol », « Nerol », etc.
- **Monocyclique:** ex : « Menthol », « a-Terpineol », « Carveol ».
- **Bicyclique:** ex : « Borneol », « Fenchol », « Chrysanthenol », « Thuyan-3-ol », etc.

Ex: **Huile essentielle de coriandre :** contient « Linalol ».

✚ **Aldéhydes:**

- **Acyclique:** ex : « Geranial », « Neral », « Citronellal », etc.

Ex : **Huile essentielle de citronnelle :** contient « Citral » et « Citrannal ».

✚ Cétones :

- **Acyclique** : ex : « Tegetone », etc.
- **Monocyclique** : ex : « Menthones », « Carvone », « Pulegone », « Piperitone », etc.
- **Bicyclique** : ex : « Amphor », « Fenchone », « Thuyone », « Ombellulone »
« Pinocamphone », « Pinocarvone », etc.

Ex : **Huile essentielle de sauge** : contient « Thuyone ».

✚ Esters :

- **Acyclique** : Linalyl Acetate Orpropionate, Citronellyl Acetate, etc.
- **Monocyclique** : Menthylora-Terpinyl acetate, etc.
- **Bicyclique** : Isobornyl Acetate, etc.

Ex : **Huile essentielle de menthe bergamote** : contient « Acétate de Linalyle ».

✚ Ethers : ex : « 1,8-Cineole », « Menthofurane », etc.

Ex : **Huile essentielle d'eucalyptus globulus** : contient « Eucalyptol ».

✚ Peroxydes : ex : « Ascaridole », etc.

Ex : **Huile essentielle de chénopode** : contient « Ascaridol ».

✚ Phénols : ex : « Thymol », « Carvacrol », etc.

Ex : **Huile essentielle de thym** : contient « Thymol ».

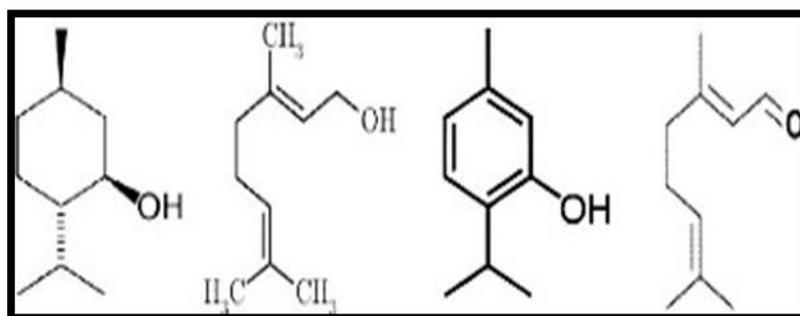


Figure 03 : Structures chimiques des monoterpènes (Touati et Mahmoudi, 2017).

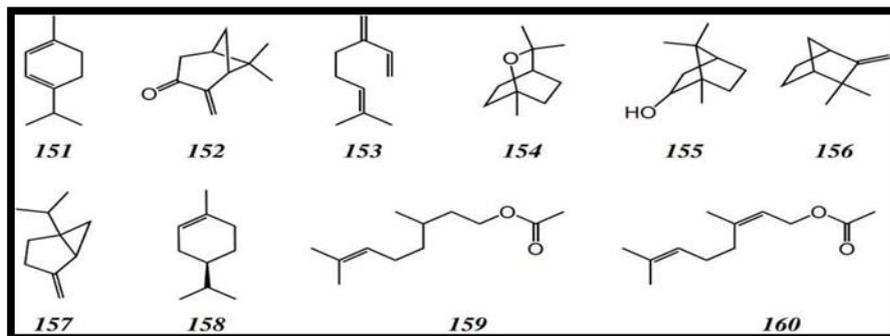


Figure 04 : Monoterpènes présents dans l'huile essentielle d'*Artemisiacampestris* (Djaalali et Bayoud, 2020).

α-Terpinène151, Pinocarvone152, Myrcène153, 1,8-Cinéole 154, Bornéol 155, Camphène 156, Sabinène 157, (+)-Carvomenthène158, Acétate de citronellyle 159, Acétate de géranyle160

V.1.2. Les sesquiterpènes

Sont des composés dérivés d'hydrocarbures, constitués par le collage de trois unités isoprènes. Ainsi, leur formule ($C_{15}H_{24}$) (Djaalali et Bayoud, 2020). Néanmoins, leur structure aussi leur fonction reste similaire à celles des monoterpènes (Lakhdar, 2015). Ils sont distincts par des arômes qui produits par les plantes et donnent à celles-ci leur goût mordant "amer" (Djazer, 2014). Il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes subdivisés de nombreux catégories structurelles : acycliques, monocycliques, bicycliques, tricycliques, polycycliques (Djebri et Douib, 2020). Ils contiennent plus de 3000 molécules comme exemple : β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α - bisabolol, farnesol (Labioud, 2016). Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés tels que les alcools, les aldéhydes, les acides, les lactones et les cétones étant les plus souvent, présents dans la nature (Djazer, 2014 ; Djebri et Douib, 2020) (figure 05).

Ils sont les constituants les plus importants et les principaux des huiles essentielles (Latreche et Mansor, 2021) (figure 06), qui ont plusieurs rôles comme un agent de défense dans les plantes, des propriétés anti-inflammatoire (Mecheri et Hammouchène, 2020), nombreuses applications médicales, formulations de parfum et de savon (Guenez et Bakhouch, 2020), décongestionnants veineux et lymphatiques, anti-allergiques (Pierron,

2014), des activités bactéricides et certains sont hypotenseurs, calmants comme (Chamazulène des Camomilles) (Jouault, 2012).

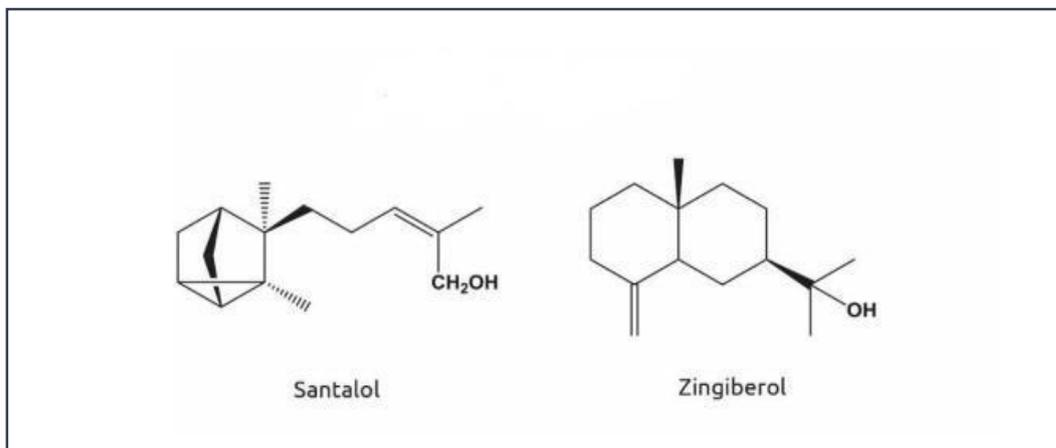


Figure 05: Structure de quelques composés des huiles essentielles (sesquiterpènes)
(Latreche et Mansor, 2021).

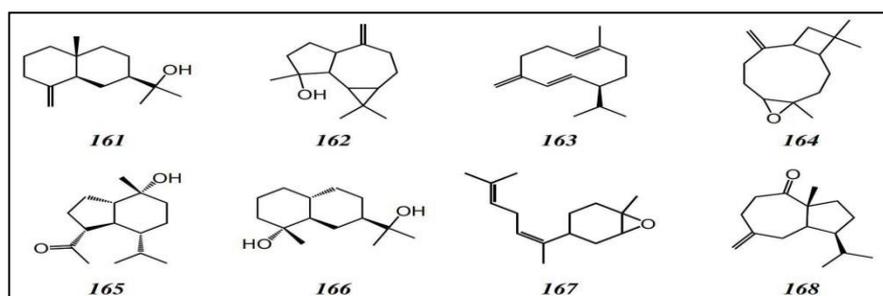


Figure 06 : Sesquiterpènes présents dans l'huile essentielle d'*Artemisiacampestris*
(Djaalali et Bayoud, 2020).

β -eudesmol 161, Spathuléol 162, Germacrène D 163, Caryophyllèneoxide

164, Oplopanone 165, Cryptomériol 166, Trans-Z-alpha-bisabolèneépoxyde.

V.1.3. Les diterpènes

Ce sont des terpènes formés par le couplage de quatre unités d'isoprènes, leur formule ($C_{20}H_{32}$), dont la masse moléculaire relativement importante limite leur présence dans les huiles essentielles donc sont peu fréquents. Ils sont obtenus par distillation par entraînement à la vapeur d'eau (Pierron, 2014).

V.2. Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les composés aromatiques (**figure 07**) dérivés du phénylpropane (C6-C3) ou composés phénoliques, sont très souvent des allyles et des propényl phénols, parfois des aldéhydes (**Labioud, 2016**). Cependant, on peut aussi rencontrer dans les HEs des composés en (C6-C1) tels que la Vanilline (assez fréquente) ou l'Athranilate de Méthyle (**Latreche et Mansor, 2021**). Ils sont moins abondants par rapport que les terpènes (**Guenez et Bakhouché, 2020**), un noyau aromatique (**figure 08**) est couplé à une chaîne de trois carbones (**Mecheri et Hammouchène, 2020**).

Ces composés aromatiques sont importants car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des huiles essentielles. Nous pouvons citer en exemple l'Eugénol qui est responsable de l'odeur du Clou de girofle (**Touati et Mahmoudi, 2017**). Cette classe renferme les composés odorants bien connus tels que la Vanilline, l'Anéthole, l'Apiole, l'Eugénol, l'Estragole et bien d'autres (**figure 09**) (**Djaalali et Bayoud, 2020**), ils sont souvent rencontrés dans les HEs d'Apiaceae comme (Anis, Fenouil, ...etc.) et sont caractéristiques de celles du Clou de girofle, de la Cannelle, de la Vanille, de l'Estragon, du Basilic...etc. (**Djaalali et Bayoud, 2020**).

Ils se distinguent entre eux par (**Ouis, 2015**) :

- Le nombre et la position des groupements hydroxyle et méthoxy;
- La position de la double liaison de la chaîne latérale, allylique ou propénylique;
- Le degré d'oxydation de la chaîne aliphatique (alcool, aldéhyde, cétone ou acide...).

Ils comprennent (**Lakhdar, 2015**) :

- ✚ **Aldéhyde** : « Cinnamaldehyde », ex : **huile essentielle de Cannelle**.
- ✚ **Alcool** : « Cinnamicalcohol ».
- ✚ **Phénols** : « Chavicol », « Eugénol », ex : **huile essentielle de Girofle** (Eugénol).
- ✚ **Dérivés méthoxy** : « Anéthole », « Elémicine », « Estragole », « Methyléugénols »,
Ex : **Huile essentielle de Fenouil** (Anéthole).
- ✚ **Composés de Méthylène dioxy** : « Apiole », « Myristicine », « Safrole », ex :
huile essentielle de Persil (Apiole).

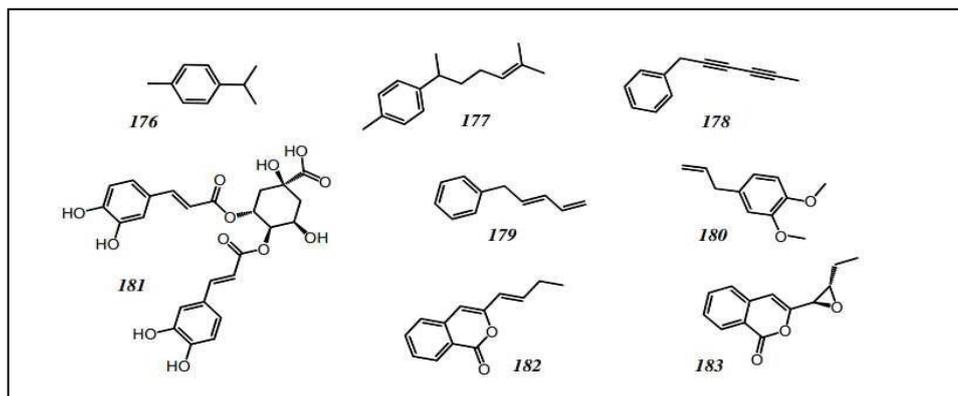


Figure 07 : Quelques composés aromatiques isolés d'*Artemisiacampestris*

(Djaalali et Bayoud, 2020).

p-Cymène176, **Ar-curumène**177, **Capillène** 178, **1-phényl-2,4-pentadiyne**179, **Méthyleugénol** 180, **Acide di-O-cafféoylquinique** 181, **Artémidine** 182, **Epoxy-artémidine**183.

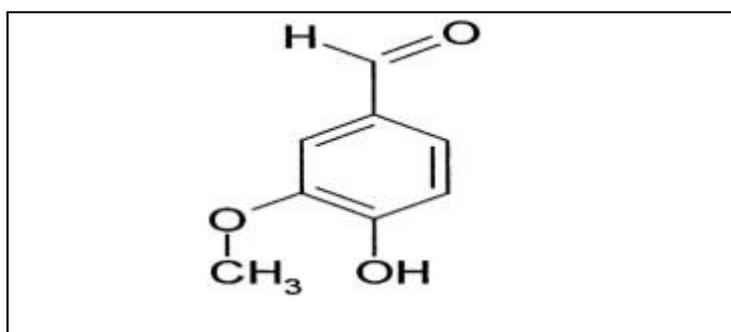


Figure 08 : Structure d'un noyau aromatique (Mecheri et Hammouchène, 2020).

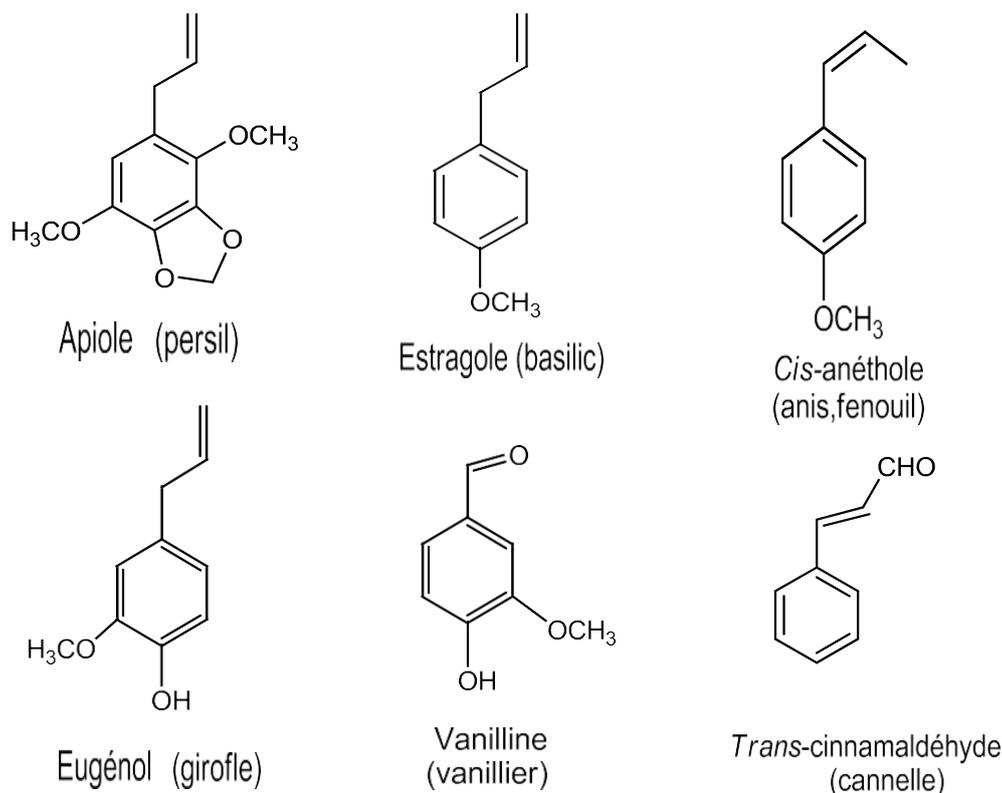


Figure 09 : Exemples de structures de composés dérivés du phénylpropane (Ouis, 2015).

V.3. Les composés d'origine divers

Compte tenu de leur mode d'extraction (Touati et Mahmoudi, 2017), les huiles essentielles peuvent contenir divers composés aliphatiques, de masse moléculaire affaibli généralement, entraînés au cours de l'Hydrodistillation (Menasri et Kais, 2021), ce sont des produits issus de la transformation de molécules non volatiles (Labioud, 2016), résultant de la dégradation d'acide gras ((3z)-hexén-1-ol, (2E)-hexénals et les acides jasmoniques) et des terpènes tels que les ionones et d'autres composés (Djebri et Douib, 2020; Latreche et Mansor, 2021). En outre, ce sont des composés non spécifiques pouvant renfermer dans leurs structures des atomes d'azote ou de soufre mais ils sont souvent rares dans les HEs (Latreche et Mansor, 2021; Lamamra, 2018)

Ce sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions (figure 10) dont on peut citer par exemple (Djazer, 2014 ; Ouis, 2015 ; Touati et Mahmoudi, 2017) :

- ✚ **Les alcools** : ce sont des produits de la série terpénique. Ils peuvent être acycliques (Géranol et Linalool), monocycliques ou bicycliques;
- ✚ **Les aldéhydes**: sont contenus dans les huiles essentielles qui dégagent généralement un arôme fort. Les aldéhydes sont le plus souvent acycliques, comme (le Géranol, le Néral et le Citronellal);
- ✚ **Les cétones**: les quantités des cétones sont négligeables dans les huiles essentielles, comme (le Carvone, le Pipéritone, le Tagénone, le Camphre et le Fenchone);
- ✚ **Les acides et les esters**: ce sont des composés trouvant chez le végétal, ils sont très fréquents dans les huiles essentielles et jouent un rôle important dans les essences. Ce sont des dérivés oxygénés des terpènes qui ont la particularité de donner un arôme fruitier, tels que des esters acycliques (acétate de Géranyle, acétate de Butyle (Pomme), acétate d'Isoamyle (Banane)); et acides (acide Géranique);
- ✚ **L'heptane et la paraffine** : dans l'essence de Camomille;
- ✚ **autres composés** : comme les éthers, les composés les Oxydes (1,8-Cinéole), les phénols (Thymol, Carvacrol), les phénylpropanoïdes (Eugénol), les terpènes (le Limonène, Para-Cymène), soufrés, les composés azotés, les carotènes, et les sesquiterpène...



Figure 10 : Les différents constituants d'huiles essentielles (Touati et Mahmoudi, 2017).

V.4. Les chémotypes

Le chémotype d'une huile essentielle est une forme de classification chimique, biologique et botanique, et une référence précise qui indique le composant biochimique principale ou distinctif, qui se trouve dans l'huile essentielle (Djazer, 2014; Labiod, 2016). Cette classification permet de faire un choix des huiles essentielles pour un emploi plus précis, plus sûr et plus efficace (Djazer, 2014) et leur comportement est fondamentale car elle permet d'envisager l'activité pharmacologique de prévoir également la pharmacocinétique et la biodisponibilité (Touati et Mahmoudi, 2017). Aussi, c'est un élément qui permet de différencier les huiles essentielles extraites d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente (Djazer, 2014).

Cette classification repose sur des facteurs associés directement aux conditions de vie spécifiques de la plante : le pays, le climat, le sol, l'exposition des végétaux, les facteurs phytosociologiques et la période de récolte qui peuvent influencer la composition de l'huile essentielle (Labiod, 2016).

Ce polymorphisme chimique existe chez certaines espèces: *Thymus vulgaris*, *Romarin officinalis*, *Mentha spicata*, *Origanum vulgare* et *L'eucalyptus*. Il est important de noter que les huiles essentielles à chémotypes différents présentent non uniquement des activités différentes mais également des toxicités très variables (Djazer, 2014; Labiod, 2016).

Tableau 01: résumé des principales familles biochimiques, leurs propriétés pharmacologiques et des exemples d'huiles essentielles dans lesquelles elles sont présentes.

Principales familles Biochimiques De molécules aromatiques	Propriétés thérapeutiques	Toxicité	Exemples D'huiles essentielles
Acides (Acide salicylique, myrténique...)	Puissants anti-inflammatoires Antalgiques	Pas de toxicité à dose physiologique	- HE de bois de santal
Aldéhydes terpéniques (Citronnellal, géranial, néral...)	Anti-inflammatoires Sédatives	Irritation cutanée	- HE d'eucalyptus citronné - HE de Citronnelle de Java
Coumarines (Citroptène...)	Anticoagulantes (efficace même à l'état de trace) Hypotensives sédatives, hypnotique	Photosensibilisantes	-Essence de citron -Essence de mandarine - Essence de pamplemousse
Esters (Acétate d'eugényle, acétate de linalyle...)	Puissants antispasmodiques Anti-inflammatoires Antalgiques Fongicides Calmantes, Relaxantes, sédatives	Pas de toxicité à dose thérapeutique	- HE de lavande vraie - HE de laurier noble
Ethers (Carvacrol méthyl éther...)	Puissants Antispasmodiques Relaxantes (plus puissantes que les esters) Antihistaminiques Antalgiques Antivirales	Attention aux Cis-anéthole et α -asarone neurotoxiques et abortives	- HE de laurier noble - HE d'estragon

<p>Cétones (thujone, menthone...)</p>	<p>Mucolytiques Expectorantes Cicatrisantes Antiparasitaires</p>	<p>Neurotoxiques abortives Attention à la toxicité en fonction de la dose</p>	<p>- HE de menthe poivrée - HE de sauge officinale</p>
<p>Monoterpènes (Camphène, limonène...)</p>	<p>Puissantes Décongestionnants Respiratoires Antiseptiques Cicatrisantes (restructuration du tissu conjonctif, emploi de courte durée sur la peau et les muqueuses si utilisé pur)</p>	<p>Dermocaustiques Attention au genévrier qui peut provoquer une inflammation chez les patients souffrant d'insuffisance Rénale</p>	<p>- Essence de bergamote - Essence d'orange douce</p>
<p>Monoterpénols (Familles des alcools) (linalol, géraniol...)</p>	<p>Immunostimulantes Puissants Antibactériens Virucides fongicides</p>	<p>Pas de toxicité à dose physiologique</p>	<p>- HE de bois de rose - HE de lavande vraie</p>
<p>Oxydes terpéniques (linaloloxyde, 1,8 cinéole...)</p>	<p>Expectorantes Décongestionnantes Mucolytiques Antibactériennes Antivirales Antiparasitaires</p>	<p>Pas de toxicité sauf l'ascaridiole et menthofurane (hépatotoxique et neurotoxique)</p>	<p>- HE de cardamome - HE de niaouli</p>

<p>Phénols (famille des alcools) (thymol, carvacrol, eugénol...)</p>	<p>Puissants Antibactériens Antivirales Antifongiques Antiparasitaires Immunostimulantes</p>	<p>Dermocaustiques à l'état pur Hépatotoxiques</p>	<p>- HE de cannelle de Ceylan - HE de clous de girofle - HE de thym vulgaire à Thymol</p>
<p>Sesquiterpènes (cadinène, sélénène...)</p>	<p>Anti-inflammatoires Sédatives Antiallergique</p>	<p>Pas de toxicité à dose physiologique</p>	<p>- HE de myrrhe - HE de santal - HE de patchouli - HE de gingembre - HE d'Ylang-ylang</p>

VI. Mode d'action des HEs

De nombreuses recherches ont conduit à une grande connaissance des huiles essentielles et de leurs mécanismes d'action (Buvat, 2017). Certains chercheurs estiment que la puissance de l'action des HEs varie en fonction de leurs constituants majoritaires, et que le mode d'action est surtout lié au profil chimique des constituants de chaque HE, qui est largement diversifié (Djaalali et Bayoud, 2020), en particulier du type et des caractéristiques des composants actifs et leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut provoquer un changement de conformation de la membrane (Labiod, 2016).

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (Labiod, 2016). Généralement, il a été observé une diversité d'actions toxiques des huiles essentielles sur les bactéries que ceux la perturbation de la membrane cytoplasmique, la perturbation de la force motrice de proton, fuite d'électron et la coagulation du contenu protéique des cellules... (Figure 11) (Toure, 2015).

Les HEs auraient des cibles qui dépendent de leurs concentrations qui sont la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique et le cytoplasme (Djaalali et Bayoud, 2020). Elle est aussi une action inhibitrice de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter*

aerogenes et peuvent également inhiber la synthèse de l'ADN, l'ARN, des protéines et des polysaccharides (Toure, 2015). D'une façon générale, l'action d'huile essentielle se déroule en trois phases (Labioud, 2016) :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

Leur mode d'action également dépend du type de microorganismes, tant que les bactéries Gram à négatif sont plus résistantes que les Gram à positif à cause de structure de leur membrane externe est que plus riche en lipo-polysaccharides et en protéines que ceux de Gram négatif qui la rend plus hydrophile, ce qui empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer (Toure, 2015). Cependant, certains composés phénoliques de bas poids moléculaires ainsi que le Thymol et le Carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries au moyen de fixation aux protéines et aux lipo-polysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus faible. En générale, ces composés phénoliques interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes ainsi l'enzyme ATPase, soit au moyen d'action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit par interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP (Toure, 2015).

Les huiles essentielles possèdent (Buvat, 2017) :

- Une action directe sur certaines fonctions physiologiques particulières, sur certains métabolismes et sur les micro-organismes pathogènes.
- Une action indirecte de par l'énergie qu'elles transmettent et leurs propriétés olfactives.

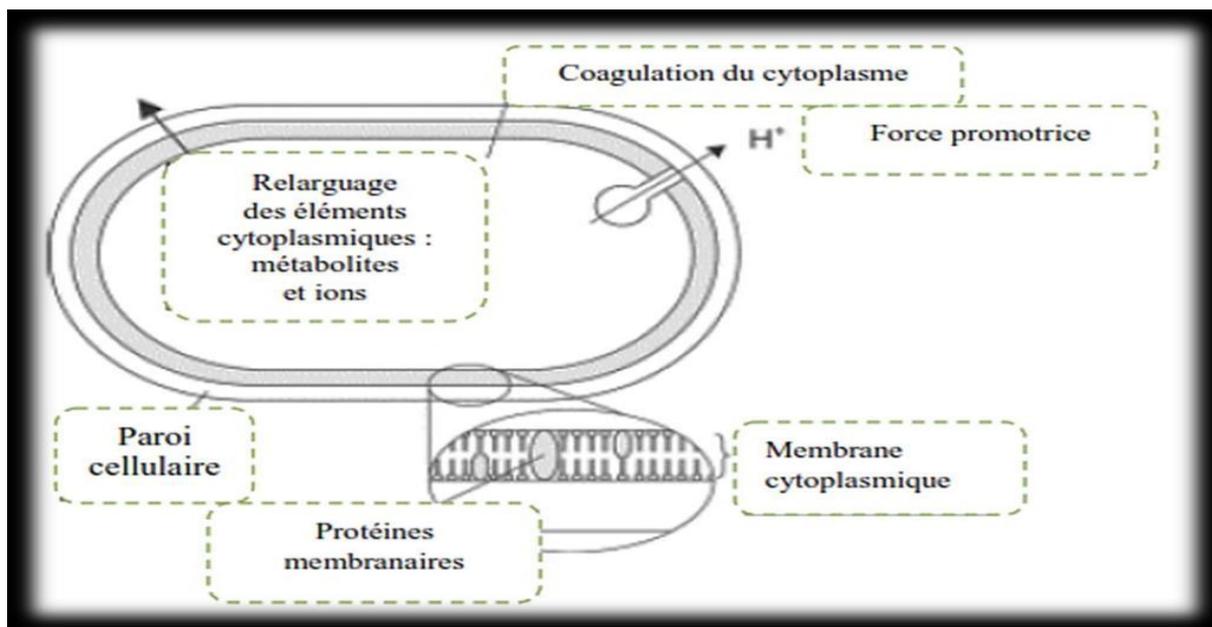


Figure 11 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (Burt, 2004).

VII. Les principales propriétés des HEs

Les huiles essentielles ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Chaque huile essentielle ne possède pas qu'une action unique (Mehani, 2015).

Les HEs sont reconnues pour leurs propriétés thérapeutiques, elles agissent de manière remarquable dans la plupart des domaines de la santé et de la maladie. Ce sont des substances douées d'activités pharmacologiques beaucoup plus importantes que les plantes fraîches (Marrouf et Tremblin, 2009).

Les hydrocarbures monoterpéniques présentent des propriétés antalgiques en usage percutané, vermifuge, emménagogue, antiseptique atmosphérique, antiparasitaire... Les hydrocarbures sesquiterpéniques présentent des effets anti-inflammatoires, calmants, hypotenseurs (Amor, 2006).

Le spectre d'action des HEs est très étendu, car elles agissent vis-à-vis d'un large éventail de bactéries. En outre, certaines essences douées d'une activité antifongique s'opposent au développement des champignons, des moisissures en les détruisant (Latloui *et al.*, 1994). Ces activités sont par ailleurs variables d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche à l'autre (Kalemba *et al.*, 2003).

La plupart des constituants des huiles essentielles ont un pouvoir antimicrobien d'où leur usage comme antiseptiques. D'autres possèdent des propriétés digestives ou des propriétés antispasmodiques, sédatives, cicatrisantes. Ces activités sont dues surtout à leurs constituants terpéniques (Zambonelli *et al.*, 1996).

En outre, de nombreuses HEs présentent une activité contre tous les différents types de douleurs et sont très utilisées pour traiter les troubles articulaires inflammatoires (Wilson *et al.*, 1997).

VII.1. propriétés physico-chimiques

Quant à les propriétés physico-chimiques, les huiles essentielles composent un groupe très homogène (Athamnia *et al.*, 2018), les principales caractéristiques sont:

VII.1.1 Propriétés physiques

Les huiles essentielles doivent affirmer à des critères physiques imposés par les normes (Lakhdar, 2015 ; Guerrouf, 2017 ; Charik et Kadri, 2020 ; Djebri et Douib, 2020 ; Mecheri et Hammouchène, 2020):

- En générale, sont des liquides à température ambiante, d'odeur aromatique très proférée.
- Leur consistance est huileuse mais non grasse.
- Les huiles essentielles sont volatiles, cette quille distingue des huiles fixes.
- Elles sont pour majorité colorées, Leurs coloration divers de l'incolore au brun clair.
- Elles ont densité est inférieure à celle de l'eau (de 0.850 à 0.950) (uniques trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HEs de Cannelle, de Girofle et de Sassafras) ;
- Leur indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée, donc elles sont avantagées de pouvoir rotatoire.
- Leur point d'ébullition varie de 160° à 240°C.
- Entraînables à la vapeur d'eau.
- Elles sont liposolubles et faiblement solubles dans l'eau, les alcools, les huiles fixes et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont sensibles à l'oxydation.

VII.1.2. Propriétés chimiques

Ce sont des mélanges complexes et extrêmement variables de constituants qui appartiennent à deux groupes, les terpénoïdes et les composés aromatiques (**Djazer, 2014 ; Lakhdar, 2015 ; Labiod, 2016 ; Charik et Kadri, 2020 ; Mecheri et Hammouchène, 2020**).

- Présence de squelette hydrocarboné qui constitue la structure des composés des HEs, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15).
- Les HEs ont souvent constituées d'essences et d'une résine dissoute dans l'essence.
- Présence de trois groupes des HEs : les HEs hydrocarbonées, les HEs oxygénées et les HEs sulfurées.
- Les huiles essentielles sont changeables car elles s'oxydent aisément à la lumière et se résinifient en absorbant de l'oxygène, simultanément, leur odeur modifie, leur point d'ébullition augmente et leur solubilité diminue.
- Elles se combinent avec l'eau pour constituer des hydrates, avec la potasse, elles donnent des composées d'addition.

VII.2. Propriétés biologiques des HEs

VII.2.1. Propriétés anti-infectieuses

Selon Buckle (2015), avec ses multiples molécules actives, presque tous les régulateurs d'HE s'avèrent anti-infectieux à des degrés divers. Ses propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques sont largement décrites et publiées.

Mehani (2015) souligne que, étant lipophiles, les huiles essentielles traversent facilement les parois cellulaires et cytoplasmiques, causant des dommages irréversibles à ces parois. Cela leur confère une cytotoxicité importante. En particulier, ils augmentent la perméabilité de ces parois.

- **Propriétés antibactériennes**

Selon Belhadj (2015), l'activité antimicrobienne des huiles est la principale fonction de leur composition chimique, et de la nature de leurs composés volatils majeurs.

Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et leur synthèse de toxicité.

Selon György (2020), ont pu déterminer l'activité antimicrobienne de différentes huiles essentielles (Thym, Citronnelle, Genévrier, Origan, Sauge, Fenouil, Romarin, Menthe, Églantier, Aneth) sur certaines bactéries pathogènes et d'altération, isolées de la surface de divers légumes frais. Mais parmi les huiles essentielles végétales choisies, l'affection antimicrobienne la plus prononcée a été détectée dans le cas de l'origan.

Selon Purchon (2001), Willem (2002), Benayad (2008), les molécules aromatiques possédant l'activité antibactérienne la plus importante sont les phénols contenus par exemple dans l'huile essentielle de Clou de girofle. Les phénols (Carvacrol, Thymol) possèdent le coefficient antibactérien le plus élevé, suivi des monoterpénols (Géraniol, Menthol, Terpinéol), aldéhydes (Néral, Géraniol).

- **Activité Antioxydant**

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs (oxygène, photons, métaux lourds, température et enzyme comme lipoxygénase). Ce sont surtout les phénols et les polyphénols. C'est la capacité de l'huile essentielle à inhiber le processus d'oxydation alimentaire (**ettacherounet, 2017**).

- **Propriétés antivirales**

Les virus donnent lieu à des pathologies très variées dont certaines posent des problèmes non résolubles aujourd'hui, les HEs constituent une aubaine pour traiter ces fléaux infectieux, les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques (**Benayad, 2008 ; Bessedik et al., 2015**).

Les virus sont assez sensibles aux huiles essentielles à phénol et à monoterpénol. Plus d'une dizaine d'huiles essentielles possèdent des propriétés antivirales. Nous pouvons citer l'huile essentielle de Ravintsara, l'huile essentielle de Bois de Hô, ou l'huile essentielle de Cannelle de Ceylan (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002**).

- **Propriétés antifongiques**

Les mycoses sont d'une actualité criante, car les antibiotiques prescrits de manière abusive favorisent leur extension, les huiles essentielles utilisées pour leurs propriétés

antifongiques sont les mêmes que celles citées précédemment cependant la durée du traitement sera plus longue. Par exemple, les huiles essentielles de Cannelle, de Clou de girofle, mais on ajoutera les sesquiterpéniques et les lactones sesquiterpéniques (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002 ; Benayad, 2008**).

Selon **Ajjouri (2008)**, annoncer par, les huiles essentielles de deux espèces de Thym, *Thymus capitatus* et *Thymus bleicherianus* ont montré, in vitro, une forte activité antifongique contre tous les champignons de pourriture du bois d'œuvre testés et les auteurs ont attribué le grand pouvoir bioactif observé chez les deux huiles, principalement, à leurs teneurs élevées en phénols terpéniques : Carvacrol et Thymol.

- **Propriétés antiparasitaires**

Les molécules aromatiques possédant le groupe des phénols ont une action puissante contre les parasites. Le Thym à Linalol, la Sarriette des montagnes sont d'excellentes huiles essentielles antiparasitaires (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002 ; Benayad, 2008**).

- **Propriétés antiseptiques**

Les propriétés antiseptiques et désinfectantes sont souvent retrouvées dans les huiles essentielles. Les aldéhydes et les terpènes sont réputés par ces propriétés et s'opposent à la prolifération des germes pathogènes comme l'huile essentielle d'Eucalyptus radiata (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002 ; Benayad, 2008**).

- **Propriétés insecticides**

Certaines huiles essentielles sont des insectifuges ou des insecticides comme celles qui contiennent des fonctions aldéhydes. On citera dans ce cas le citronellal présent dans l'eucalyptus citronné ou la citronnelle (**Purchon, 2001 ; Willem, 2002**).

VII.2.2. Propriétés anti-inflammatoires

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes sont douées de propriétés actives contre les états inflammatoires (**Laurent, 2017**). Ainsi, les huiles essentielles qui en sont riches, sont très utilisées par voie interne ou locale, dans les troubles articulaires inflammatoires. Les huiles essentielles d'Eucalyptus citronné, de Géranium, de Gingembre, de Giroflier ont un bon pouvoir anti-inflammatoire (**Mehani, 2015**).

En effet les bien utilisations d'HE n'induisent pas d'effets indésirables. Seulement un risque d'irritation cutanée peut être observé si l'on ne dilue pas assez ou déceiment l'HE dans une huile végétale (Laurent, 2017).

Parmi d'autres exemples, l'HE de Myrrhe amère (HE *Commiphora momol* Engl) présente un intérêt clinique réel car elle est riche en sesquiterpènes d'action longue et profonde; elle se révèle antalgique, anti-inflammatoire et anesthésique locale puissante (Shen *et al.*, 2012).

VII.2.3. Propriétés régulatrices du système nerveux

Les huiles essentielles agissent sur le système nerveux central et le système nerveux autonome. Ce sont des huiles à action sédative ou à action stimulante. L'action se fait par stimulation ou inhibition du système nerveux périphérique. Les huiles essentielles sont utilisées pour leur pouvoir analgésique. De nombreuses huiles essentielles ont une action antispasmodique qui leur permet d'avoir une action contre certaines douleurs : gastrique menstruelles, musculaires, céphalées, rhumatismes (Mehani, 2015).

- **Propriétés antispasmodiques**

Les huiles essentielles possédant des esters (exemple : HE de Lavande fine) ou celles riches en éthers (HE de Basilic tropical) possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés comme l'huile essentielle d'Hélichryse. Tous les esters (acétates, angélates, benzoates...) sont spasmolytiques, agissant à plusieurs niveaux: central, neurovégétatif et musculaire (Franchomme et Penoël, 2001; Purchon, 2001 ; Willem, 2002 ; Koto *et al.*, 2006).

- **Propriétés calmantes, anxiolytiques**

Les HEs riches en aldéhydes terpéniques (HE de Verveine citronnée et HE de Mélisse) sont sédatifs, et favorisent la détente et le sommeil calmantes du système nerveux central (Franchomme et Penoël, 2001 ; Purchon, 2001 ; Willem, 2002).

Les méthyl-éthers, aux propriétés très proches de celles des esters, agissent sur le système nerveux avec des effets tant calmants pour les sujets hypertoniques que toniques pour les personnes asthéniques (Franchomme et Penoël, 2001).

Les dystonies neuro-végétatives et les asthénies (HE de Lavande vraie et Citrus (Bergamote et Mandarine)) (Saiyudthong *et al.*, 2011).

- **Propriétés analgésiques, antalgiques**

Les huiles essentielles les plus connues pour leur action antalgiques sont les huiles essentielles d'Eucalyptus citronné, de Gingembre, de Lavande vraie.

VII.2.4. Propriétés digestives

Les plantes aromatiques, riches en huiles essentielles, sont traditionnellement utilisées depuis l'antiquité comme épice pour leurs propriétés digestives, carminatives, cholérétiques, hépto-stimulantes et hépto-stimulantes (Teuscher *et al.*, 2005).

Les huiles essentielles de Cumin (avec une molécule de Cumin) stimulent les glandes digestives, le Romarin de haute qualité avec la Verbénone, la Menthe poivrée riche en Menthone et l'HE de Carvi avec la Carvone pour stimuler et éliminer la sécrétion biliaire. Le Menthol et le Thujanol-4 sont des stimulants reconnus des hépatocytes en pratique.

De plus, l'Estragon a une action digestive et coupe-faim. Ils permettent de stimuler la sécrétion des sucs digestifs. L'huile essentielle de Menthe poivrée soulage les nausées (Purchon, 2001 ; Willem, 2002).

VII.2.5. Propriétés cicatrisantes

Les huiles essentielles thérapeutiques utilisées pour la plupart des maux sont les huiles essentielles de Sauge (*Cistus ladaniferus*), de Lavande vraie (*Lavandula vera*), d'Immortelle (*Helichrysum italicum*) et de Myrrhe (*Commiphoramyrtha*). Un mélange de plusieurs huiles essentielles thérapeutiques est souvent utilisé avec une huile végétale comme l'huile d'Amande douce.

Par exemple, Les huiles essentielles utilisées contre les maladies de la peau ont des propriétés cicatrisantes dues à leur activité physico-chimique et leur action cinétique. Ce sont les huiles essentielles de Lavande Spike, Palmarosa, Nyaoli, Raven Sara et Rosemary (Mehani, 2015).

VIII. Les principales voies d'utilisation des HEs

On retrouve quatre voies principales d'administration des huiles essentielles : la voie orale, la voie rectale, la voie cutanée et la voie respiratoire. Le choix de la voie d'administration sera influencé par des critères qui seront soit propres au patient et à sa pathologie : nature du trouble, localisation, âge du patient, etc. ; soit par des critères liés aux huiles essentielles utilisées : solubilité, saveur etc.

VIII.1. La voie orale

L'ingestion ne doit jamais se faire pure : il faut toujours les diluer avec de l'huile végétale ou par exemple dans du miel car celles-ci ne sont pas solubles dans l'eau et laisser fondre sous la langue. Il est préférable de ne jamais ingérer plus de trois gouttes d'une même huile essentielle plus de trois fois par jour (**Willem, 2002 ; Baudoux et al., 2006**).

L'HE peut être appliquée pure ou en mélanges sublinguaux pour ceux qui ne provoquent pas d'irritation. Cette voie permet un passage rapide dans la circulation générale en évitant le premier passage hépatique. Le problème réside dans le goût prononcé des huiles essentielles, d'où la préférence pour boire de l'eau tiède ou une infusion après la prise, mélanger l'HE avec du miel (surtout si l'hypertension artérielle est gênante), du sirop d'érable, de l'huile végétale, de la chapelure ou sur un morceau de canne Diabète (sauf pour les diabétiques). Il peut également être déposé sur des comprimés neutres ou gélatineux pour faciliter la manipulation et réduire son effet irritant. Elles peuvent également faire l'objet d'une préparation élaborée en gélules, ce qui permet de masquer le goût s'il est désagréable, et de protéger la muqueuse gastrique dans le cas de gélules résistantes au système digestif. La voie orale n'est cependant pas adaptée à toutes les huiles essentielles, certaines étant toxiques (**Franchomme et al, 2007 ; Moro Buronzo, 2008 ; Roux, 2011 ; Duval, 2012 ; Velé, 2015**).

VIII.2. La voie rectale

La voie rectale, cette voie est utilisée pour une action locale ou générale, avec l'emploi de suppositoires est le mode d'utilisation préconisé dans les infections broncho-pulmonaires ou les patients ayant une mauvaise tolérance gastrique. Cette voie permet une absorption rapide et efficace des principes actifs des huiles essentielles en évitant le circuit digestif (**Willem, 2002 ; Baudoux et al., 2006**).

La voie rectale permet une bonne diffusion générale des principes actifs. C'est d'ailleurs une alternative cette voie, par exemple pour les patients craignant le goût des huiles essentielles, ayant des difficultés à avaler les gélules ou ayant une mauvaise tolérance gastrique. Les huiles essentielles sont incorporées dans des suppositoires. La voie rectale doit cependant être évitée en cas de maladie hémorroïdaire, de rectocolite hémorragique ou encore de maladie de Crohn. Il convient d'être prudent si l'on emploie des huiles essentielles riches en phénols irritants ou en cétone neurotoxiques (**Moro Buronzo, 2008 ; Roux, 2011**).

VIII.3. La voie cutanée

Certaines HEs sont utilisés par voie externe, largement utilisée en aromathérapie, car l'effet est au même temps local et général car les HEs pénètrent facilement et rapidement les couches cutanées pour gagner la microcirculation périphérique puis la circulation générale. On évitera autant que possible d'employer des HEs pures par voie cutanée. Il est préférable de les diluer avec une huile végétale. C'est notamment le cas des huiles riches en phénols et en aldéhydes aromatiques. L'utilisation d'HEs pures pourra être envisagée pour certaines d'entre elles, considérées comme étant sans danger connu. Un test cutané est toutefois préférable pour prévenir toute réaction (**Baudoux, 2001**). La prudence s'impose également avec les HE photo-sensibilisantes de type citron, bergamote, orange, pamplemousse ou autre : elles risquent de provoquer l'apparition de taches sur la peau, lors d'une exposition solaire (**Ulrich, 2010**).

L'application se fait en regard de l'organe cible : sur le dos et thorax pour l'action sur l'arbre pulmonaire, colonne vertébrale, sur le système nerveux, abdomen, action sur les organes internes (estomac, foie, reins...), et puis nuque, tempe, front, lobes des oreilles pour l'action sur les céphalées et migraines (**Franchomme *et al.*, 2007 ; Moro Buronzo, 2008 ; Roux, 2011 ; Duval, 2012 ; Velé, 2015**). Les huiles essentielles peuvent être intégrées dans des gels, des pommades ou encore solubilisées pour faire des bains aromatiques. De plus, l'utilisation des HEs au sein des cosmétiques est aujourd'hui très courante.

VIII.4. la voie respiratoire

La voie respiratoire est très utile quand il s'agit de traiter des affections ORL ou pulmonaires. Elle sera utilisée soit L'inhalation humide (inhaler des vapeurs chaudes chargées d'HE) utilisée contre les affections respiratoires, pulmonaires et les maux de tête

d'origine nerveuse, soit en l'inhalation sèche consiste en l'inspiration d'HE directement déposée sur mouchoir, oreiller ou sur les mains après les avoir frictionnées. Lors de la diffusion dans l'atmosphère, il faut prendre soin de choisir des huiles essentielles labélisées biologiques, pures, et adaptées afin d'éviter les allergies et les contre-indications. Certaines huiles essentielles peuvent être irritantes pour les muqueuses respiratoires (usage d'appareils de diffusion atmosphérique toujours dans une indication respiratoire, dans un but d'assainissement ou encore pour corriger certains troubles nerveux) (Moro Buronzo, 2008 ; Roux, 2011). Pour l'utilisation en gouttes nasales les HEs doivent être diluées pour éviter le traumatisme des muqueuses. Les collutoires ont selon leur composition : une action antiseptique, anti-inflammatoire ou anesthésique (Franchomme *et al*, 2007 ; Moro Buronzo, 2008 ; Roux, 2011 ; Duval, 2012 ; Velé, 2015).

IX. Paramètres influençant la composition quantitative et qualitative des HEs

Bouguerra (2012) rapporte que, les huiles essentielles présentent une très grande diversité, au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité est fondamentale pour les activités biologiques qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs d'origine intrinsèque et spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèques, liés aux conditions de croissance et de développement de la plante.

IX.1. facteurs intrinsèques

Une huile essentielle doit être rapportée au matériel botanique d'où elle est issue pour éviter toutes dénominations trompeuses du matériel végétal (**Bruneton, 1999**).

Les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition et le rendement des huiles essentielles. Sont l'effet du stade végétatif, l'organe de la plante, les hybridations, les facteurs de mutation, la polyploïdie et le polymorphisme chimique « chimiotypes ou formes physiologiques » (**Bouguerra, 2012**).

IX.2. facteurs extrinsèques

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des huiles essentielles. Comme la température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les

conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (Bouguerra, 2012).

X. Toxicité des HEs

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, des études scientifiques montrent que les huiles essentielles peuvent avoir une certaine toxicité et les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Il faut cependant noter que cela varie selon la voie d'exposition et la dose prise (Degryse *et al.*, 2008). En fait, bien que les huiles essentielles soient naturelles, elles sont loin d'être sans danger ou il est capital d'intégrer la notion de la dualité « efficacité-toxicité » car toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique.

Selon Englebin (2011), les huiles essentielles sont des substances très puissantes et très efficaces, elles sont la puissance concentrée d'une plante aromatique, il n'est donc jamais faux de surdoser, quelle que soit l'absorption, car toute substance est potentiellement toxique à doses élevées ou répétées. Rien n'est poison, disait Paracelse, "tout est poison, tout dépend de la dose". Il faut aussi savoir qu'une durée trop longue entraîne l'inversion des effets et l'apparition d'effets secondaires indésirables.

Selon Baudoux (2000), Franchomme (2007), Bruneton (2009), Marinier (2009), Roux (2011), Pierron (2014), Pacchioni (2014), Velé (2015), la toxicité des HEs est directement liée à leur composition chimique, les composés polyinsaturés étant plus toxiques que les autres (cétones, lactones, phénols...).

Rappelons que les huiles essentielles sont susceptibles d'entraîner plusieurs types de toxicité :

- **Hépatotoxicité** : Les phénols à haute dose et sur une durée prolongée peuvent altérer les hépatocytes. Le plus toxique étant le Carvacrol.
- **Dermotoxicité** : (irritations, brûlures, hypersensibilité, phototoxicité) et irritation des muqueuses exposées.
- **Photosensibilisation** : La photo sensibilisation se caractérise par une augmentation de la sensibilité cutanée aux rayonnements solaires, notamment aux rayons ultraviolets, provoquant des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la

carcinogène.

Toutes les essences des zestes de Citrus (Citron, Orange, Mandarine, Lime, Cédrat, Pamplemousse, Combawa) ainsi que Ammi visnaga (Khella) et Angelica archangelica (Angélique) peuvent présenter un risque de photosensibilisation après application et exposition solaire. Elles ne doivent par conséquent, jamais être utilisées avant une exposition solaire.

- **Neurotoxicité** : Les huiles essentielles d’Absinthe, l’Armoise, le Cèdre, l’Hysope, la Sauge officinale, le Thuya, la Menthe poivrée sont contre-indiquées en cas d’antécédents d’épilepsie, chez les personnes âgées avec troubles nerveux et chez les enfants de moins de 7 ans. La neurotoxicité s’explique par la forte affinité des cétones pour les lipides, il y aurait passage de la barrière hémato-encéphalique, destruction des gaines de myéline et perturbations électriques des neurones avec excitation puis dépression (dépression ou excitation du système nerveux central, effet stupéfiant, convulsions).
- **Néphrotoxicité** : L’absorption orale prolongée d’HE riches en monoterpènes (pinène, camphène) est susceptible d’enflammer et d’abîmer les néphrons. Ces HE surtout ceux des Pinus (toutes les espèces de Pin), des Abies (toutes les espèces de Sapin), des Juniperus (toutes les espèces de Genévrier).
- **Hypersensibilité** : Les lactones sesquiterpéniques, l’aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les hyperoxydes sont les principales molécules responsables de phénomènes allergiques dont le risque varie évidemment avec le terrain du patient.

Même les huiles essentielles qui sont censées combattre les réactions prurigineuses allergiques peuvent, après un usage sur de très longues périodes, provoquer des réactions allergisantes chez le patient hypersensible comme Menthapiperita (Menthe poivrée), Salviaofficinalis (Sauge officinale), Lavandula (toutes les espèces de Lavandes et de Lavandins), Melissa officinalis (Mélisse).

De plus, des huiles essentielles de différentes variétés d’origan ont montré une forte cytotoxicité sur des cellules humaines dérivées de cancers (Sirovopoulou *et al.*, 1996).

XI. Domaines d'utilisation des HEs:

Les huiles essentielles sont utilisées dans plusieurs domaines, principalement en parfumerie et cosmétique, dans le domaine alimentaire et l'industrie pharmaceutique, dans l'industrie agro-alimentaire. Les HEs sont utilisées comme aromatisants naturels et agents de conservation des aliments et agent de conservation et cela est grâce à la présence de composée ayant des propriétés antimicrobiennes et antioxydants (**Reighard et Olesik, 2006**). En aromathérapie les HE sont utilisées contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne ou fongique ou pour préserver la nourriture contre les insectes, les préparations des désodorisants. Elles sont considérées comme agents antimicrobiens et antiseptiques. Le caractère volatile de ces huiles permet d'envisager leur utilisation en tant qu'agents de préservation pour le contrôle de l'hygiène de l'air des systèmes de climatisation, notamment en milieu hospitalier, entraînant un effet bénéfique au niveau de la qualité de l'air des locaux (**Muselli et al., 2004**).

XI.1. Dans l'industrie agroalimentaire

Les premières utilisations des plantes aromatiques par l'homme se sont faites pour enrichir la cuisine. Les Egyptiens diffusaient des odeurs par le chauffage de mélanges contenant des huiles essentielles dans le but d'augmenter l'appétit des personnes malades (**Baser et Buchbauer, 2009**).

Les huiles essentielles jouent un rôle capital dans l'aromatization des aliments. En effet, elles donnent la saveur aux condiments (poivre, gingembre) et aux aromatisants (menthe, ail, anis, oranger, thym, laurier). Elles sont également très prisées en liquoristerie (boissons anisées, kummel) et en confiserie (bonbons, chocolat,...) (**Teissedre et al., 2000**). Un risque théorique existe de par les substances potentiellement toxiques que contiennent certaines d'entre elles, mais les très faibles quantités utilisées rendent le danger peu probable (**Fernandez et Chemat, 2012**), et certaines substances ont un effet favorable sur la digestion. Les huiles essentielles entrent donc, pour leurs diverses propriétés, dans la composition des arômes employés de manière fréquente aujourd'hui dans tous les produits alimentaires comme les plats cuisinés ou prêts à l'emploi (**Porter, 2001**).

Maintenant, l'industrie agroalimentaire utilise les HEs dans les préparations surgelées non seulement pour rehausser le goût mais Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments et empêcher la contamination en lieu et place des conservateurs

chimiques potentiellement toxiques (effet antimicrobien). Un certain nombre d'herbes aromatiques, notamment de la famille des Lamiaceae, a montré leur efficacité pour la conservation de la viande ou de certains plats cuisinés (**Fernandez et Chemat, 2012**).

En plus l'huile essentielle de thym (*Thymus vulgaris* L.) qui présente une meilleure activité antifongique que la plupart des agents chimiques actuellement utilisés (**Kumar et al., 2008**).

XI.2. En parfumerie et cosmétique

Les propriétés odoriférantes des huiles essentielles confèrent à ces dernières une consommation importante en parfumerie et en cosmétique.

A la cosmétologie et le secteur des produits d'hygiène on notera la présence des HEs dans les préparations dermo-pharmacologique, bais « calmant » ou « relaxant », et leur emploi dans les rouges à lèvres, les shampoings, les dentifrices, se sont surtout les huiles essentielles de lavande, de citron, de jasmin, de violette, qui sont utilisées. On notera qu'il y a une possibilité d'adsorption percutanée des constituants terpéniques (acné, rides, couperose, etc.), des cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, secs, gras, etc.) (**Bouamer et al., 2004 ; Bouanane et Boussehel, 2005**). Elles sont également intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires ainsi que de nombreux produits d'ambiance comme les liquides pour pots-pourris (**Richardson, 1999**).

Les produits d'hygiène, détergents et lessives par exemple, consomment eux aussi beaucoup d'HEs pour masquer les odeurs (souvent peu agréables) des produits purs. Actuellement, on préfère utiliser des produits naturels qui sont censés ne pas avoir d'effets secondaires graves par rapport aux produits de synthèse. En effet, il ne faut pas oublier que « naturel » ne signifie pas non toxique.

XI.3. En pharmacie

Depuis des milliers d'années, l'Homme utilise les huiles essentielles et plus généralement les plantes aromatiques pour se soigner (**Garneau, 2005**). Il est important de bien différencier l'usage traditionnel des huiles essentielles, où elles sont utilisées telles quelles à des fins thérapeutiques ; des applications qu'en fait l'industrie pharmaceutique. L'industrie pharmaceutique emploie également les huiles essentielles sous un nombre grandissant de formes (complexes à vaporiser, pastilles, gélules, dentifrices,...).

Il y a 7 huiles essentielles inscrites à la pharmacopée européenne :

Huile essentielle d'Anis, d'Eucalyptus, de Clou de girofle, de Fleur d'oranger amer, de Lavande, de Menthe poivrée, de Thym. Leurs propriétés pharmacologiques leur confèrent une utilisation médicale. Les huiles essentielles ont en effet :

❖ **Pouvoir antiseptique**

Contre des bactéries variées ainsi que des champignons et levures. Citons les huiles essentielles de thym, girofle, lavande, eucalyptus (**Saller et al., 1998**).

❖ **Propriétés spasmolytiques et sédatives**

Certaines drogues à huiles essentielles (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux. L'amélioration de certaines insomnies et de troubles psychosomatiques divers est également notée (**Bruneton, 1993**).

❖ **Propriétés irritantes**

De nombreuses crèmes, pommades à base d'huiles essentielles, sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires. En effet, par voie externe, certaines huiles essentielles (ex: oléorésine dans la térébenthine) augmentent la microcirculation, induisent une sensation de chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale (**Bruneton, 1993**).

Notons également que la médecine vétérinaire semble également s'intéresser de près aux huiles essentielles. Ainsi on utilise aujourd'hui les huiles essentielles comme conservateur, dans l'alimentation animale ou tout simplement pour soigner les animaux de différentes affections (**Burt, 2004 ; Baser et Buchbauer, 2009**).

L'utilisation des huiles essentielles doit se faire avec la plus grande prudence en raison du risque important de mésusage et d'intoxication.

Chapitre II
**Méthodes d'extraction des
Huiles Essentielles**

I. Définition de l'extraction

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques.

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre:

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.
- D'une phase solide à une phase liquide.

La découverte de nouveaux médicaments peut passer par l'étude de ces substances naturelles et si une molécule se trouve être performante dans un domaine précis, elle pourra faire l'objet d'une commercialisation sous forme de médicament.

Il existe plusieurs méthodes d'extraction dont certaines ont été développées par les artisans parfumeurs bien avant l'essor de la chimie moderne.

II. Les méthodes d'extraction et l'obtention des HEs

L'extraction d'une l'huile essentielles (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, récupérer une substance relativement fragile et présente en faible quantité dans le végétal, et cela sans en altérer la qualité.

Diverses méthodes d'extraction des extraits végétaux sont appliquées, et cette diversité est due à la diversité des matières premières (leur état d'origine, leurs propriétés et leur nature) et à la grande sensibilité de certains de leurs composants (hautes températures) (**Hilal, 2011**), où le processus d'obtention des huiles essentielles joue un rôle déterminant dans leur composition chimique. De plus, ce choix détermine les propriétés des huiles essentielles, notamment : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement de certains composants et leurs usages et applications (**Afssaps, 2008**).

Plusieurs méthodes d'extraction, existent dont : La distillation (est le procédé le plus ancien utilisé pour extraire les huiles essentielles), Distillation par entraînement à la vapeur d'eau, Hydrodistillation et Distillation par les solvants (**Figure 12**) (**Baer et Buchbauer, 2010 ; Wilson, 2010**).

Avec une meilleure connaissance des composants des huiles, de nouvelles techniques ont été développées pour augmenter le rendement de production et améliorer la qualité de l'huile, telles que l'extraction avec du dioxyde de carbone liquide à basse

température et haute pression (Santoyo *et al.*, 2005) ou l'extraction à l'aide d'ultrasons ou de micro-ondes (Kimbariset *al.*, 2006).

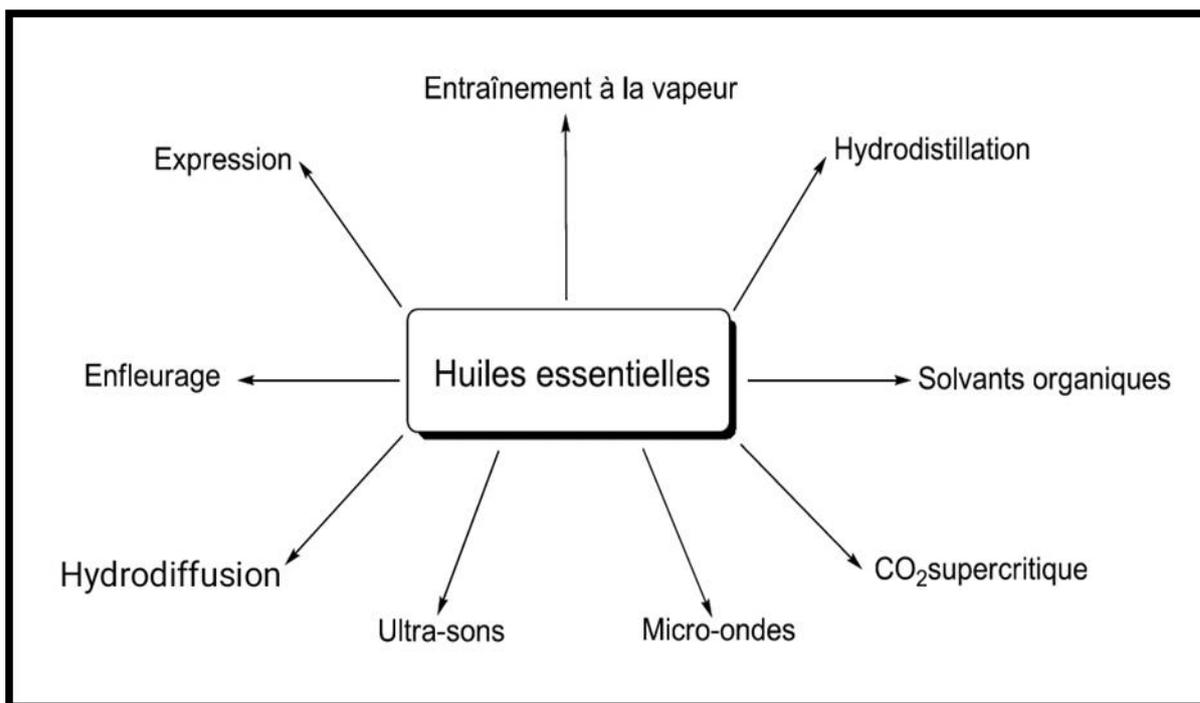


Figure 12: Méthodes d'extraction des huiles essentielles (Ouis, 2015).

II.1. Distillation

Selon Benjilali (2004), la distillation peut être définie comme étant la séparation des constituants d'un mélange de deux ou plusieurs composants en fonction de leur température de passage à l'état gazeux (ébullition ou sublimation) (les séparer du reste de la plante).

La distillation peut s'effectuer avec recyclage de l'eau de distillation ou sans recyclage. La production des huiles essentielles se ferait donc en deux étapes : la diffusion de l'huile essentielle de l'intérieur des tissus vers la surface du matériel végétal, et l'évaporation et entraînement à la vapeur d'eau.

Selon Bruneton (1999), le principe de la distillation repose sur la propriété qu'ont les huiles essentielles d'être volatiles sous l'effet de la chaleur, l'huile est alors entraînée par la vapeur d'eau. Après condensation, l'huile essentielle se sépare du distillat par décantation.

Il est communément admis que la vapeur pénètre les tissus de la plante et vaporise toutes les substances volatiles. Dans l'industrie des huiles essentielles une terminologie distingue quatre types de distillation :

- Distillation par entraînement à la vapeur d'eau.
- Hydrodistillation.
- Distillation par les solvants.
- Distillation assistée par micro-ondes ou ultrasons.

II.1.1. Distillation par entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des méthodes officielles et la plus couramment utilisée pour la fabrication des HEs (**Pharmacopée Européenne 2007**). C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française (**Roux, 2008**). Dans cette méthode, il n'y a pas de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, cela évite certains phénomènes d'hydrolyse (notamment des esters) ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile (**Raaman, 2006**). Cette opération s'accomplit dans un alambic. Cette méthode est utilisée pour des plantes fraîches telles que la Menthe et le Myrte et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles qui sont cueillies puis partiellement coupées ensuite portées au dispositif de distillation (**Haeckel et Omar, 1993**). Le principe de la distillation à la vapeur d'eau consiste à :

On fait bouillir de l'eau dans une chaudière pour obtenir de la vapeur qui détruit la structure des cellules végétales. Cette vapeur est envoyée dans le corps de l'alambic (cuve en cuivre ou en inox), qui contient le matériel végétal à distiller. En traversant le végétal, la vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes aromatiques de la plante, contenant les molécules aromatiques et volatiles. Ces molécules, plus légères que l'eau, vont être entraînées vers le haut de l'alambic par la vapeur, jusqu'à atteindre la sortie haute, que l'on appelle le col de cygne. La vapeur chargée en molécules aromatiques va être condensée en passant dans le serpentin, qui est réfrigérant. Elle va donc refroidir petit à petit, et se condenser pour redevenir liquide. A la sortie du serpentin, le liquide est recueilli dans un vase de décantation, aussi appelé florentin ou essencier. C'est dans ce récipient que l'huile essentielle, par différence de densité, va se séparer de l'eau de distillation, en remontant à la surface du florentin. L'eau de distillation, aussi appelée hydrolat, va être

recupérée, ou renvoyée à la chaudière pour un nouveau cycle (Figure 13) (Rullière et Porraz, 2015).

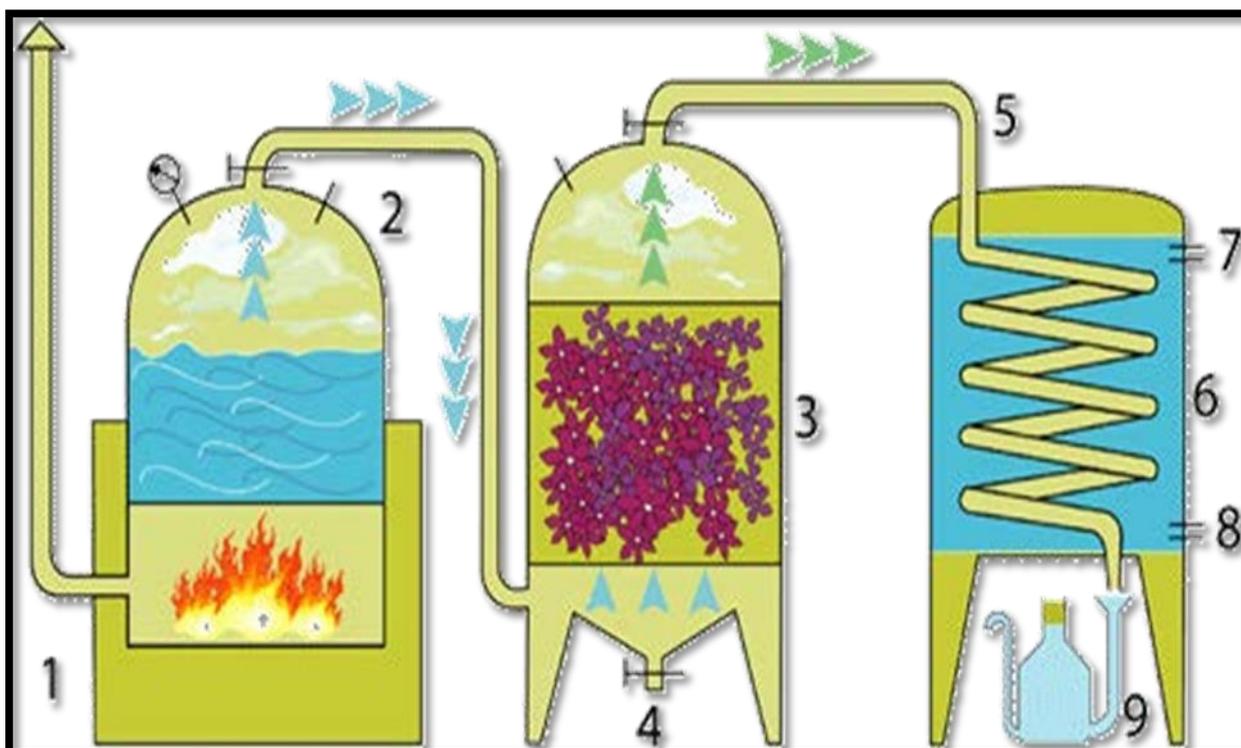


Figure13: Distillation à la vapeur d'eau (Blondel, 2014).

- | | |
|-----------------------------|--|
| 1: Foyer | 6: Réfrigérant avec serpentin |
| 2: Chaudière | 7: Sortie d'eau chaude |
| 3: Vase à fleurs | 8: Arrivée d'eau froide |
| 4 : Vidange de condensation | 9: Essencier servant à la décantation
de l'essence et de l'hydrolat |
| 5: Col de cygne | |

II.1.2. Hydrodistillation

L'Hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante dans le domaine de la recherche (Sutour, 2010). Est une technique d'extraction dans laquelle le solvant est l'eau. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. Le principe consiste à porter à ébullition dans un ballon un mélange d'eau et de plante dont on souhaite extraire l'huile essentielle. Le chauffage permet l'éclatement et la libération des molécules volatiles contenues dans la matière végétale (AFNOR.1980 ;

Ochoa, 2005). Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau un mélange azéotropique (eau + huile essentielle). Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (**Abou Zeid, 2000**), puis sont récupérées dans un récipient (**Bruneton, 1999 ; Asma, 2011**). Cette méthode est simple dans son principe et ne nécessite pas un appareillage coûteux (**Figure 14**) (**Brian, 1995**). L'Hydrodistillation possède des limites. En effet, un chauffage prolongé et trop puissant engendre la dégradation de certaines molécules aromatiques (**Lucchesi, 2005**). L'extraction des huiles essentielle par Hydrodistillation est réaliser par un appareil de type Clevenger (**Figure 15**). Avant l'emploi, l'appareil a été nettoyé à l'acétone puis rincé à l'eau distillée afin d'éliminer les poussières et les graisses probablement présentes dans l'appareil afin d'éviter toute contamination de l'huile au cours de l'extraction (**Golmakani et Rezaei, 2008 ; Mehani, 2015**). La durée d'une Hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait. Ce procédé présente des inconvénients dus à l'action de la vapeur ou de l'eau bouillante ; Certains membres de la plante, notamment les fleurs, sont très fragiles et ne supportent pas les traitements de distillation à la vapeur et d'Hydrodistillation (**Farhat, 2010**).

L'entraînement à la vapeur d'eau est préférable à l'Hydrodistillation du fait qu'elle permet une extraction totale des huiles essentielles en améliorant le rendement de 33% par rapport à l'Hydrodistillation (**Tableau 02**) (**Vernon et Richard 1976**).

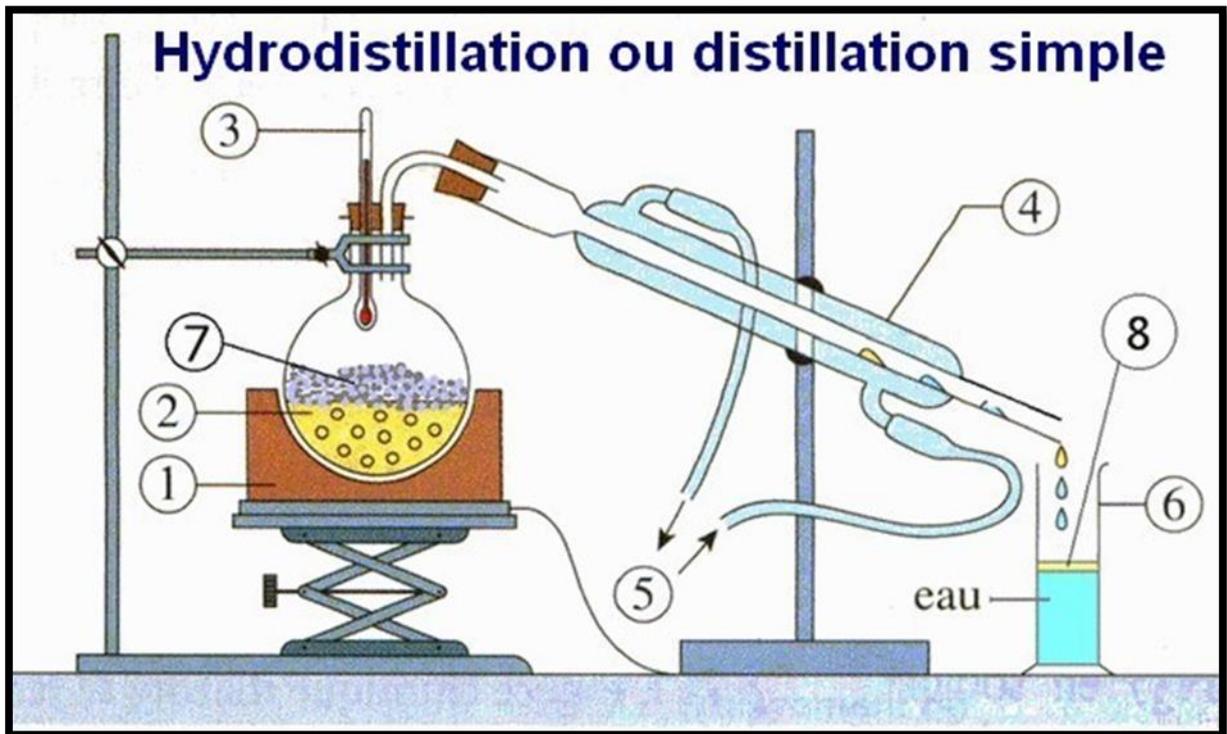


Figure 14 : Schéma du principe de la technique d'Hydrodistillation (Lucchesi, 2005).

1 : Chauffe-ballon

5 : Arrivée d'eau froide et sortie d'eau tiédie

2 : Eau bouillante

6 : Eprouvette graduée

3 : Thermomètre

7 : Matière à extraire l'essence

4 : Réfrigérant à l'eau

8 : Huile Essentielle

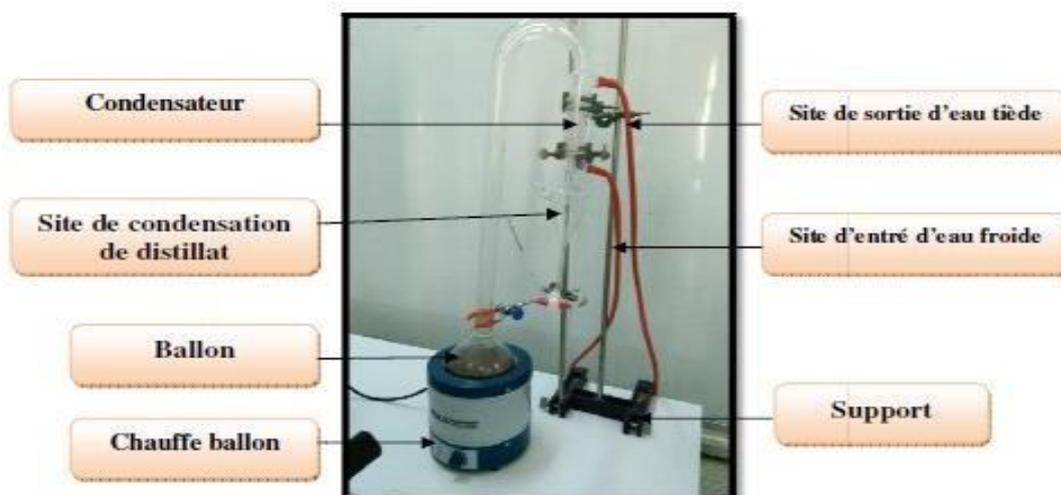


Figure15 : Montage d'Hydrodistillation de type Clevenger dans le laboratoire.

Tableau 02 : la différence entre l'Hydrodistillation et l'entraînement à la vapeur d'eau (Duval, 2012).

	Hydrodistillation	Distillation par Entraînement à la vapeur d'eau
Type d'alambic	Simple, de faible coût, transportable et facilement installable dans les régions de production.	De grande dimension pour augmenter la cadence de distillation.
Type de matériel végétal	Fleurs principalement, Inadapté si présence de composés saponifiables, hydrosoluble ou à température d'ébullition élevé.	Tous sauf matériel finement broyé. Adapté pour les composés à point d'ébullition élevée.
Conditions de Diffusion	Bonnes, surtout si le matériel végétal est totalement immergé et mobile dans l'eau.	Bonnes, si la vapeur est légèrement mouillée et si elle diffuse de manière homogène dans le matériel végétal.
Température dans l'alambic	Proche de 100°C, risque d'endommagement du matériel végétal par contact direct avec la cuve.	Modulable, peut dépasser 100°C.
Vitesse de Distillation	Relativement faible.	Elevée.
Hydrolyse	Vitesse d'hydrolyse d'esters élevée.	Faible en général.
Rendement	Souvent relativement faible.	Bon si l'extraction est correctement conduite.
Qualité de l'huile	Dépend des conditions	Bonne si l'extraction est correctement conduite.

II.1.3. Distillation par les solvants organiques volatils

En général, la technique d'extraction par solvant organique, consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique (**Dastmalchi et al., 2008**). Les étapes sont les suivantes (**Figure 18**) :

- La matière végétale macère dans un solvant. Le solvant ainsi enrichi en molécules odorantes est ensuite récupéré par évaporation ou distillation sous vide à faible température pour obtenir une pâte brunâtre visqueuse appelée **concrète** (produits obtenus à partir d'une matière première fraîche d'origine végétale, par extraction) (**Franchomme, 2015**).
- Lors d'une deuxième étape appelée « épuisement à l'alcool éthylique », cette concrète est débarrassée de ses cires végétales et certains pigments non miscibles dans l'alcool. Les cires sont dissoutes dans de l'éthanol pur puis précipitées suite à un changement radical de températures (chauffées puis glacées). Après filtration, le filtrat est distillé à basse pression pour évaporer l'alcool et obtenir une **absolue** (**Franchomme et al., 2001 ; Lis-Balchin, 2006 ; Franchomme, 2015 ; de la Charie, 2019**).

Deux types d'extraction ont été utilisés :

- **Premièrement** : L'extraction solide/liquide, c'est-à-dire l'opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide (la matière à extraire), et une phase liquide (le solvant d'extraction).
- **Deuxièmement** : L'extraction liquide/liquide, c'est-à-dire l'opération de transfert ou d'échange de matière entre deux phases liquides, la solution et le solvant. Il s'agit d'une extraction systématique en continu, utilisée pour extraire un constituant particulier ou pour en éliminer d'autres, en utilisant deux solvants non miscibles à pouvoir dissolvant plus spécifique de chaque groupe (**Moulin et al., 2002**).

L'extraction est réalisée avec un appareil de Lickens-Nickerson Soxhlet ou un appareil de Soxhlet (**Figure 16**) (**Boutekedjiret, 1999**). L'extracteur Soxhlet est un dispositif en verre permettant l'extraction d'une substance (**Figure 17**). Les huiles essentielles ont la propriété de se solubiliser dans la plupart des solvants organiques. Les solvants les plus

utilisés sont: les hydrocarbures aliphatiques (l'éther de pétrole et l'hexane) mais aussi le propane ou le butane liquide (sous pression). On a également recours aux solvants halogénés (dérivés chlorés et fluorés du méthane et de l'éthane) ainsi qu'à l'éthanol, le cyclohexane, le chloroforme le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone (**Bruneton, 1999 ; Kim *et al.*, 2002 ; Mueller *et al.*, 2004 ; Grigoniset *al.*, 2005**).

Le solvant idéal devant répondre aux critères suivants (**Bruneton, 1999 ; Mueller *et al.*, 2004 ; Garneau, 2005 ; Piochon , 2008 ; Nguemtchouimbouga, 2012**) :

- la sélectivité (extraire les molécules aromatiques mais pas les molécules indésirables comme les pigments).
- Avoir une température d'ébullition basse, pour permettre une élimination simple et stabilité thermique des constituants.
- Ne pas être miscible à l'eau, qui rendrait la purification de l'extrait plus délicate.
- Être peu coûteux.
- Le solvant ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait.
- la facilité de recyclage.
- Ne pas présenter de contre-indication dans les domaines d'application de l'extrait obtenu.
- Ne pas être inflammable.
- la sécurité de manipulation : les solvants choisis seront, dans la mesure du possible, non toxiques tant pour le manipulateur que pour le consommateur.

Cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultrasons (**Benouali, 2016**). Deux nouvelles méthodes ont été développées ces dernières années pour la distillation des substances aromatiques des végétaux: l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction au dioxyde de carbone supercritique.

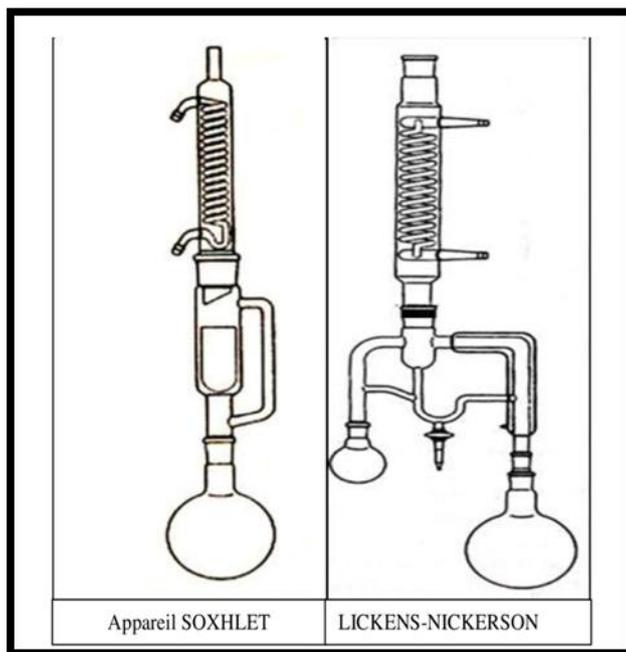


Figure 16 : Montage d'extraction par solvant

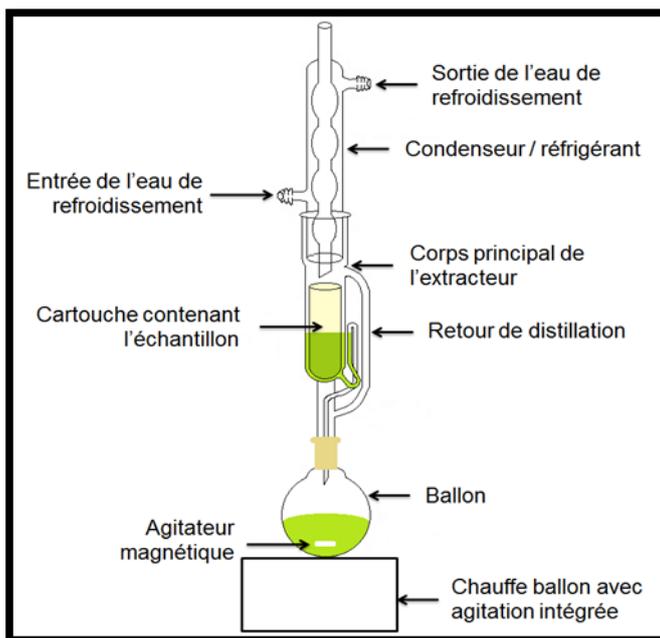


Figure 17 : Extracteur de soxhlet.

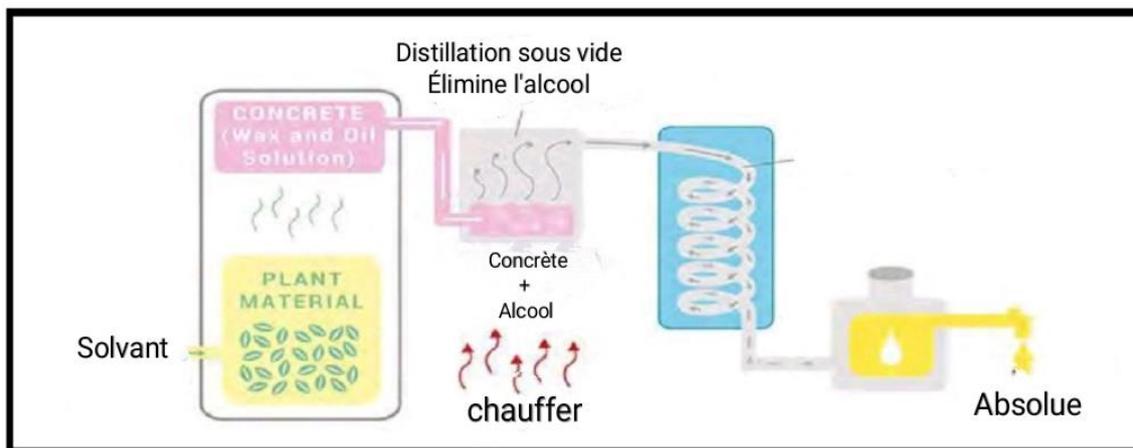


Figure 18: Schéma du procédé d'extraction par un solvant volatil (Arantxa L, 2020).

II.1.4. Distillation assistée par micro-ondes et ultrasons

II.1.4.1. Extraction par micro-ondes

Les micro-ondes sont une source de chaleur sans contact qui permet d'obtenir un chauffage plus efficace et plus sélective. Avec l'aide de micro-ondes, la distillation peut maintenant être achevée en quelques minutes au lieu des heures avec divers avantages qui sont en conformité avec la chimie verte et les principes d'extraction.

Dans ce procédé, les matières végétales sont extraites dans un réacteur micro-ondes sans ou avec solvants organiques:

❖ L'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (ESSAM) :

C'est une technique récente développée. Le procédé d'extraction par micro-ondes appelée Solvent Free Microwave Extraction ou (SFME) consiste à extraire l'huile essentielle (Viollon et Chaumont, 1994 ; Lucchesi *et al.*, 2004).

La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée sélectivement par un rayonnement micro-ondes. Les rayonnements micro-ondes sont des ondes électromagnétiques qui se propagent dans le vide à la vitesse de la lumière. Elles sont caractérisées par une fréquence comprise entre 300 MHz et 30 GHz, c'est-à-dire par une longueur d'onde comprise entre 1 m et 1 cm (Figure 19) (Kingston et Haswell, 1997 ; Skaria *et al.*, 2007).

Les micro-ondes agissent sur certaines molécules, telles que l'eau, qui absorbent l'onde, et convertissent son énergie en chaleur, Il en résulte une soudaine augmentation de la température à l'intérieur du matériel, jusqu'à ce que la pression interne dépasse la capacité d'expansion des parois cellulaires (**Farhat, 2010**).

Le chauffage de l'eau contenue dans la plante, permet la rupture et le séparation des glandes renfermant l'huile essentielle (**Grigonis et al., 2005**).

Les molécules volatiles sont entraînées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal. La vapeur est ensuite récupérée et traitée de la même façon que dans les méthodes traditionnelles (**Piochon, 2008**). On observe alors une importante réduction du temps d'extraction avec une légère augmentation du rendement d'extraction, sans différence significative dans la composition chimique de l'huile essentielle. La réduction du temps de contact avec l'eau et la réduction de la température de chauffage permettent de mieux préserver les composés oxygénés de l'essence (**Kosar et al., 2007 ; Golmakani et Rezaei, 2008 ; Gavahian et al., 2012**).

Les HE extraites sont plus riches en composés oxygénés, comparativement à la méthode conventionnelle. En fait, l'abondance des composés oxygénés dans l'HE est liée au chauffage rapide des substances polaires avec les micro-ondes et à la faible quantité d'eau dans le milieu, ce qui empêche la dégradation des composés par réactions thermiques et hydrolytiques (**Lucchesi, 2005**).

Le but de ce protocole étant d'éviter l'usage de solvant organique afin d'obtenir le produit le plus « propre » possible. Des études de transposition au niveau industriel ont déjà donné des résultats satisfaisants dans cette méthode (**Filly et al., 2014**).

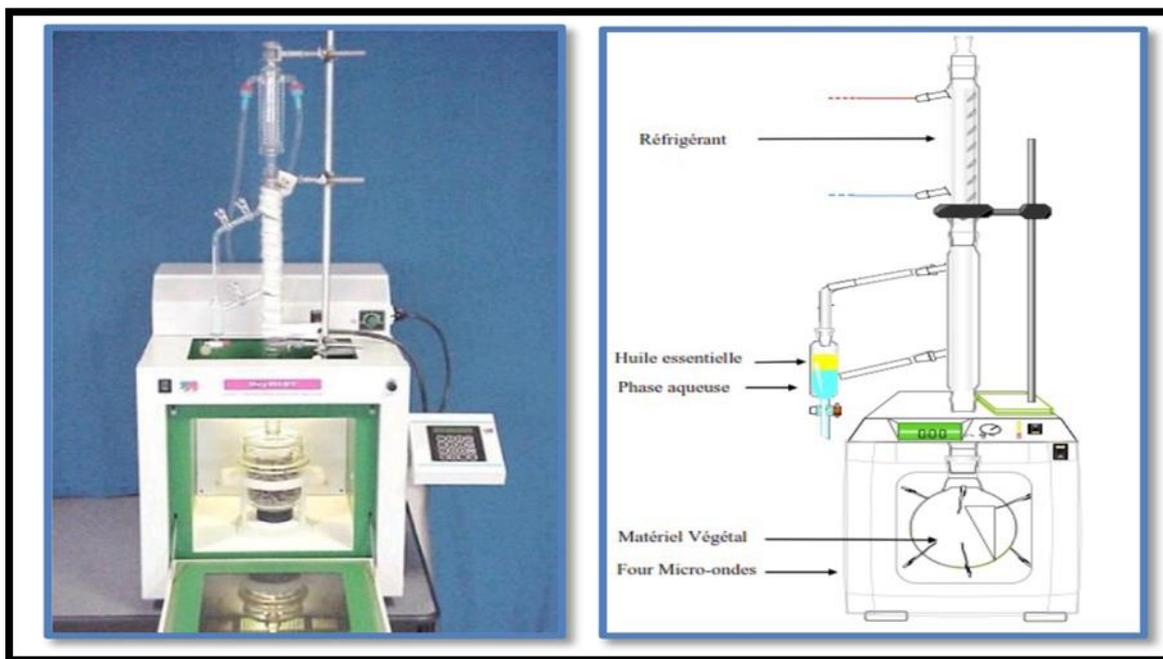


Figure 19: Extraction sans solvant assistée par micro-ondes (GUERROUF A, 2017).

❖ L'extraction avec solvant assistée par micro-ondes :

Selon Ganzler (1986) en Hongrie, furent les premiers à présenter une technique d'extraction par solvant assistée par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. Ce procédé consistait à irradier par micro-ondes de la matière, végétale ou non, broyée au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires. Cette technique se présentait, pour beaucoup, plus efficace qu'une méthode conventionnelle (les micro-ondes atteindraient directement les systèmes glandulaires et vasculaires du végétal) et permettait de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie.

Ensuite, cette technique a été brevetée en 1990, par Paré *et al* comme étant un processus assisté par micro-ondes. Son principe consiste à traiter sous irradiation micro-ondes la matière végétale immergée dans un solvant n'absorbant pas les rayonnements micro-ondes tel que l'hexane (Figure 20). Lorsque les cellules d'huile végétale sont soumises à des contraintes thermiques sévères et des pressions locales élevées, la montée en pression dans les cellules de l'HE excède leur capacité d'expansion et provoque une rupture des glandes contenant les HEs plus rapide que dans l'extraction conventionnelle.

Les matières volatiles et l'HE se dissolvent dans le solvant organique avant d'être séparées par extraction liquide-liquide.

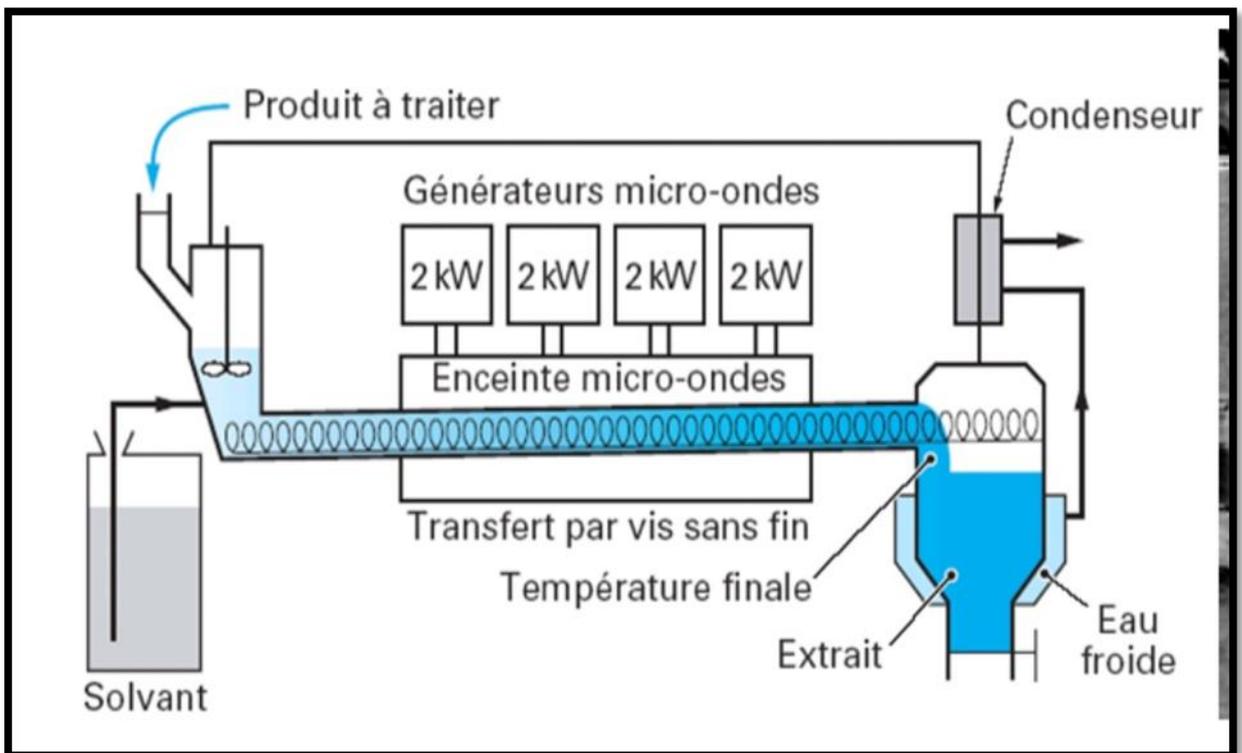


Figure 20: L'extraction par solvant assistée par micro-ondes (ESMO) (Lucchesi *et al.*, 2007).

Une étude comparative entre les méthodes d'extraction conventionnelles et celles assistées par micro-onde est exposée sur le **tableau 03**.

Tableau 03: Comparaison entre les méthodes d'extraction conventionnelles et celles assistées par micro-ondes (Mandal, S et al., 2015).

Méthodes d'extraction Conventionnelles	Méthodes d'extraction assistées par micro-ondes
- Le mécanisme de chauffage se fait à partir de la surface du récipient à l'intérieur du récipient réactionnel.	- Etant donné que le réacteur est transparent aux micro-ondes, le contenu du réacteur est chauffé simultanément entraînant un chauffage volumétrique.
- Le récipient doit être en contact physique avec la source de chaleur.	- Le réacteur n'a pas besoin d'un contact physique avec la source de chaleur.
- Le chauffage s'effectue par la source thermique.	- Le chauffage s'effectue par des ondes électromagnétiques.
- Le mécanisme de chauffage est la conduction suivie par convection à l'intérieur du récipient.	- Le mécanisme de chauffage est la polarisation diélectrique et la conduction ionique.
- Le transfert d'énergie se produit depuis la surface du récipient au mélange pour faire réagir les espèces.	- Le noyau du contenu est chauffé directement tandis que la surface agit en tant que moyen de perte thermique.
- Tous les composants du mélange réactionnel reçoivent la même quantité d'énergie thermique.	- Les composants spécifiques du mélange réactionnel peuvent être chauffés à des degrés différents en fonction de leur capacité à absorber les Micro-ondes.
- Le taux de chauffage est minime.	- Le taux de chauffage est très élevé.
- La température la plus élevée qui peut être atteinte est contrôlée par le point d'ébullition du mélange.	- La température du mélange peut être beaucoup plus élevée que son point d'ébullition, elle est donc indépendante du point d'ébullition des solvants.
- L'extraction nécessite plusieurs heures.	- L'extraction nécessite quelques minutes.

II.1.4.2. Extraction par ultrasons

L'extraction par ultrasons des huiles essentielles (20-100 kHz) est une technologie émergente qui fait gagner beaucoup de temps. Le principe de cette technique est le suivant (Figure 21) : en effet, la matière première est immergée dans de l'eau ou dans un solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Les ultrasons favorisent la diffusion de l'eau dans les tissus cellulaires de la matière première, (Lagunez-Rivera, 2006). Il est facile à mettre en œuvre et consomme peu de solvant et d'énergie (Chemat et al., 2008).

Le principal avantage de ce procédé est de réduire considérablement le temps d'extraction, d'augmenter le rendement d'extraction et de faciliter l'extraction des particules thermosensibles (Lagunez-Rivera, 2006).

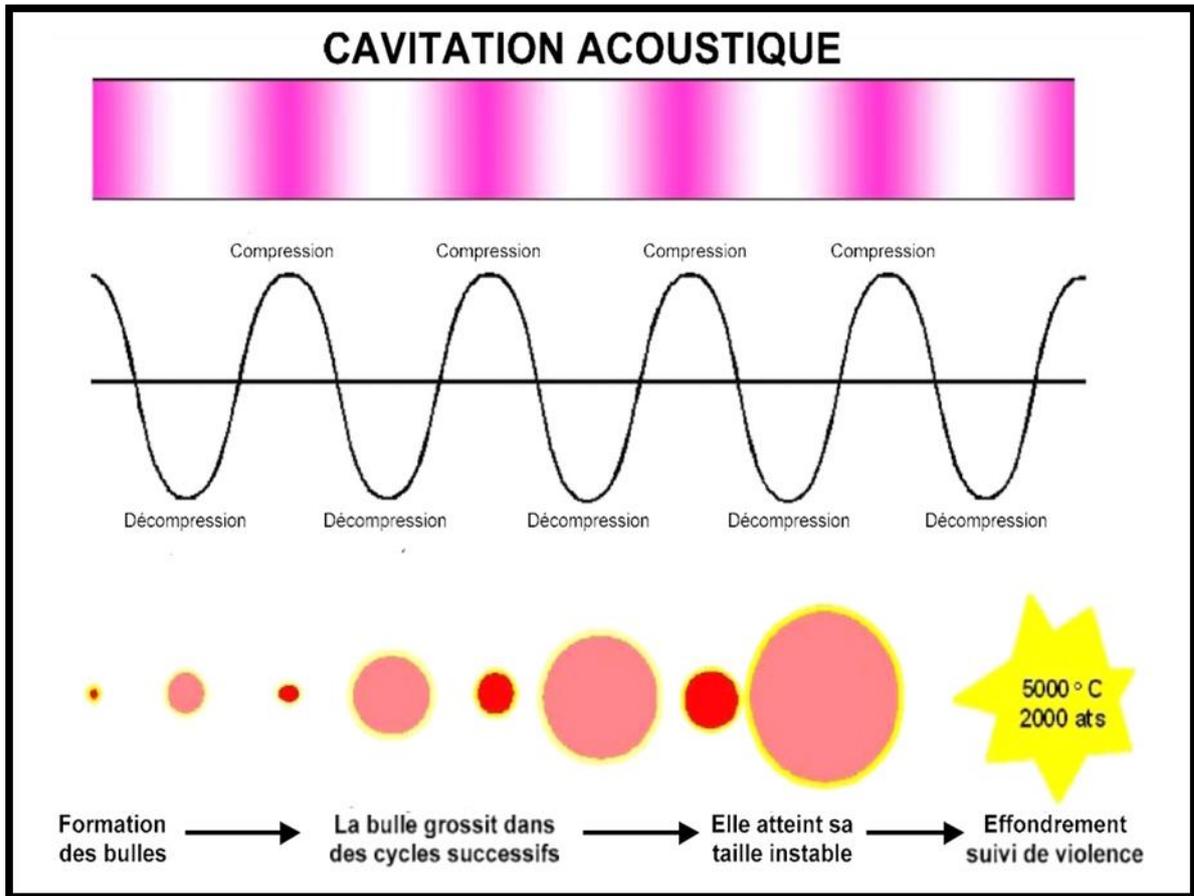


Figure 21: Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore (Bousbia, 2011).

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides (Figure 21).

Selon Vinatoro (2001), les mécanismes d'extraction comprennent deux phénomènes physiques :

- Les molécules peuvent parfois traverser la paroi cellulaire par simple diffusion ;
- Le contenu des cellules peut être « filtré » après la destruction des parois cellulaires pour restituer tous les composés d'intérêt.

Les ultra-sons permettent d'améliorer ces deux phénomènes. Ils pourraient augmenter le rendement, diminuer la quantité de solvant nécessaire et/ou le temps de traitement (Mason et Cintas, 2002).

II.2. Extraction par expression à froid

"Procédé mécanique sans chauffage" (Dugo *et al.*, 2002). C'est le procédé le plus ancien et le plus simple pour obtenir une Huile Essentielle, et celui qui conserve le mieux l'intégrité de l'essence, est également le plus limité car il ne s'applique qu'aux agrumes (Oranges, Mandarines, Citrons, Limes, Pamplemousses, bergamote) dont le péricarpe des fruits possède des poches sécrétrices d'essences (Figure 22) (Roux, 2011 ; Baudoux *et al.*, 2012).

Autrefois, les fruits étaient frottés manuellement sur des parois garnies de picots d'une écuelle de bois. L'huile exprimée était recueillie à l'aide d'une éponge. Elle était ensuite soigneusement filtrée. Quatre à cinq heures sont nécessaires pour traiter une centaine de kilo d'écorces, sans compter les pertes de rendement. Mais Aujourd'hui, ce procédé consiste à broyer ou rupture des péricarpes et réservoirs d'essences olfactives, à l'aide de presses, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence (Figure 23) (Roux, 2008). L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau. Une émulsion constituée d'eau et d'essence se forme et ces deux éléments sont par la suite séparés par centrifugation (Couecou *et al.*, 2001 ; Asma, 2010). Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008 ; Roux, 2011 ; Baudoux *et al.*, 2012).

En règle générale, c'est l'huile essentielle présente dans les glandes schizolysigènes de peau du fruit que l'on cherche à récupérer (Dugo *et al.*, 2002).

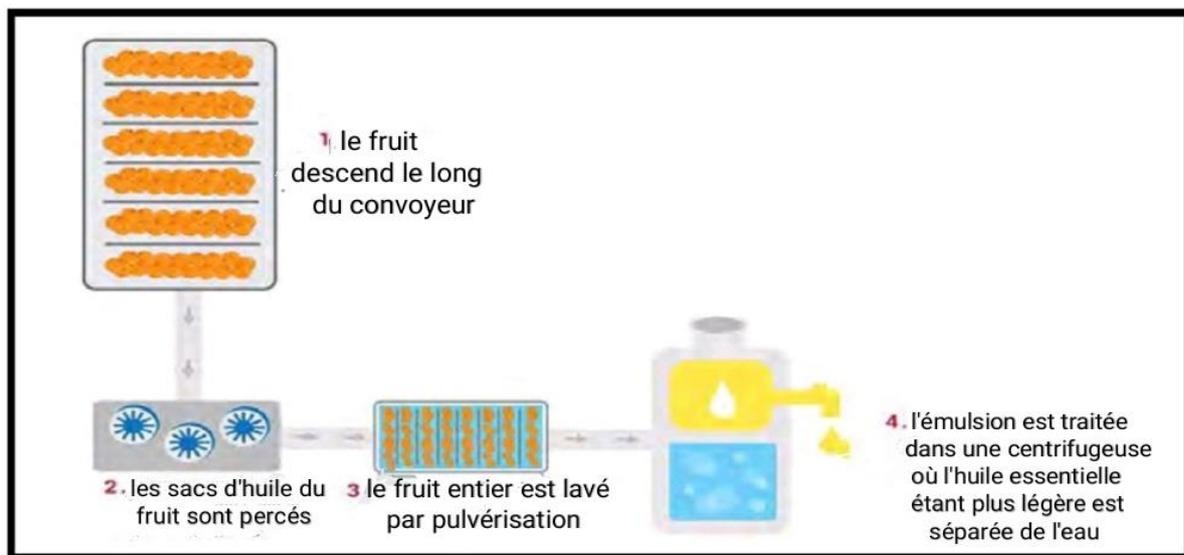


Figure 22: Schéma du procédé d'expression (Arantxa, 2020).



Figure 23 : Presse hydraulique pour la méthode d'expression à froid (Guerrouf, 2017).

II.3. Hydrodiffusion ou Percolation

Cette technique est relativement récente. Elle est une méthode consistant à envoyer la vapeur d'eau de haut en bas et non de bas en haut comme pour techniques classiques de distillation, et à pression réduite, au travers de la matrice végétale (Figure 24) (Bassereau *et al.*, 2007 ; Velé, 2015). L'huile essentielle est recueillie grâce à un collecteur qui permet un équilibre avec la pression atmosphérique (Wijesekara *et al.*, 1997). Il en résulte une extraction de certains composés non volatils (c'est le principal inconvénient), aussi le produit obtenu ne bénéficie-t-il pas de l'appellation d'huile essentielle, mais d' « essence de percolation » (Dipage, 2009).

L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide donc moins dommageable pour les composés volatils et l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée (Franchomme, 1990 ; Richard, 1992 ; Bassereauet *al.*, 2007). De plus, l'hydrodiffusion permet une économie d'énergie due à la réduction de la durée de la distillation et donc à la réduction de la consommation de vapeur.

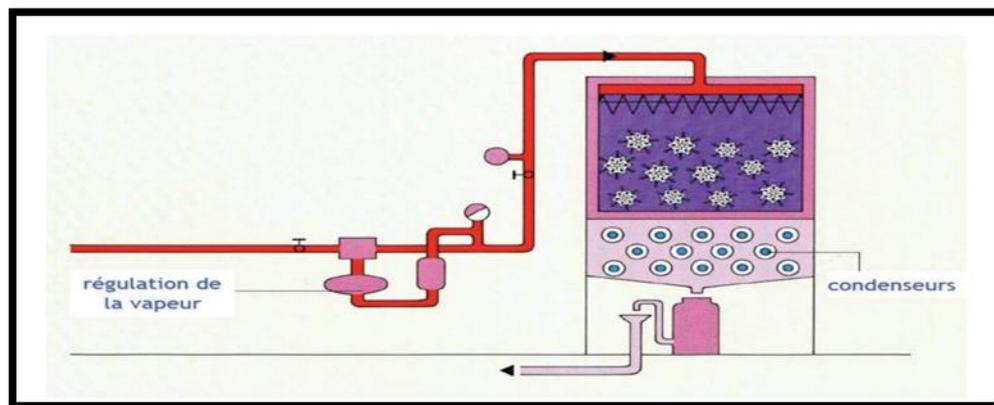


Figure 24 : Schéma du procédé d'Hydrodiffusion (Guerrouf, 2017).

II.4. Enfleurage

L'enfleurage est une technique assez difficile. Elle date de l'antiquité égyptienne et est l'un des plus anciens procédés (Seu-Saberno et Blakeway, 1984). Il est basé sur l'affinité des parfums pour les graisses. Ce procédé met à profit la liposolubilité des composants odorants des végétaux dans les corps gras (Bruneton, 1999). Dans ce système d'extraction, on distingue deux méthodes selon la résistance de la plante à la chaleur : l'enfleurage à froid et l'enfleurage à chaud: (Beneteaud, 2011 ; Salomé-Abarca, 2015).

II.4.1. Enfleurage à froid

Ce processus d'extraction, n'es plus trop utilisé. L'enfleurage à froid permet de traiter les fleurs les plus délicates (comme le Jasmin ou la Tubéreuse). Pratiquement, on dépose manuellement et délicatement les pétales de fleurs une à une sur des plaques de verre enduites d'une mince couche de graisse froide inodore. Puis, on superpose ces plaques sur des châssis de bois. Les substances volatiles diffusent et sont absorbées par la couche de graisse. Au bout de quelques jours, la graisse est saturée en essence végétale. On renouvelle périodiquement les fleurs 10 à 15 fois jusqu'à saturation du corps gras.

Pour pouvoir utiliser la fragrance à la fin de cette méthode, il convient de la délayer de la graisse avec de l'alcool absolu pour isoler le parfum du reste de la matière et obtenir des extraits alcooliques de fleurs « absolues » puis de distiller finalement cet alcool selon ses besoins afin de concentrer davantage la senteur (Lardry et Haberkorn, 2007 ; Möller, 2008).

II.4.2. Enfleurage à chaud

La macération utilise les même graisses mais à chaud. Pour cela, il convient de chauffer une graisse animale dans une chaudière en cuivre à 60 degrés, puis de faire infuser les fleurs les moins fragiles (telles que la Rose de Mai, la Cassie, la Violette ou la Fleur d'oranger) et détremées pendant 12 à 24 heures. Afin d'obtenir un résultat de qualité, il faut pressurer les plantes et remplir de nouveau la chaudière. Ce processus est répété autant de fois que nécessaire pour assurer le passage d'un maximum d'arômes dans la graisse. Ensuite une opération de filtration est nécessaire pour séparer la graisse des fleurs. Une pâte parfumée appelée « pommade » va être traitée avec la même technique d'extraction que pour un enfleurage à froid (Figure 25) (Möller, 2008).

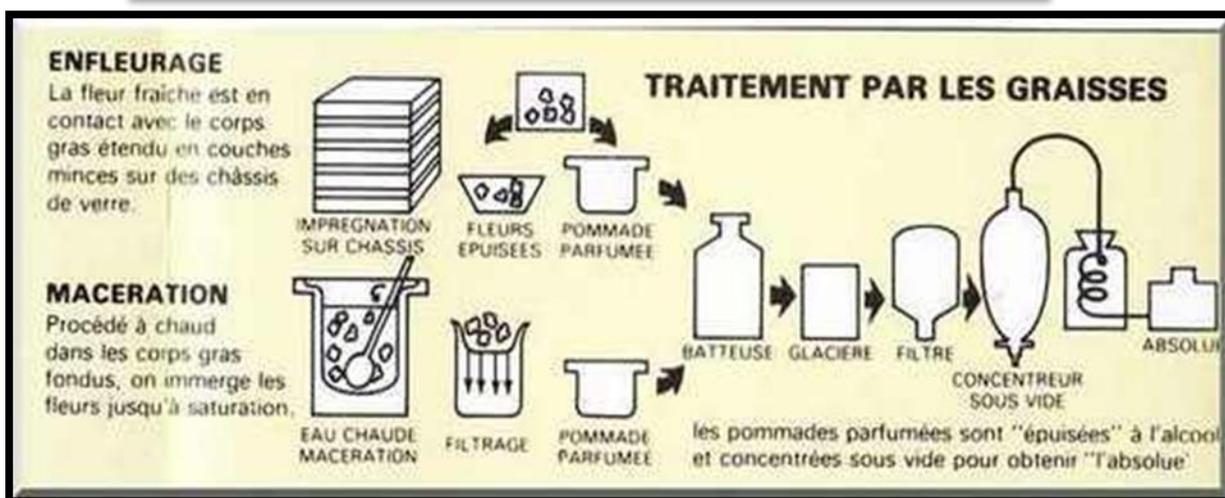
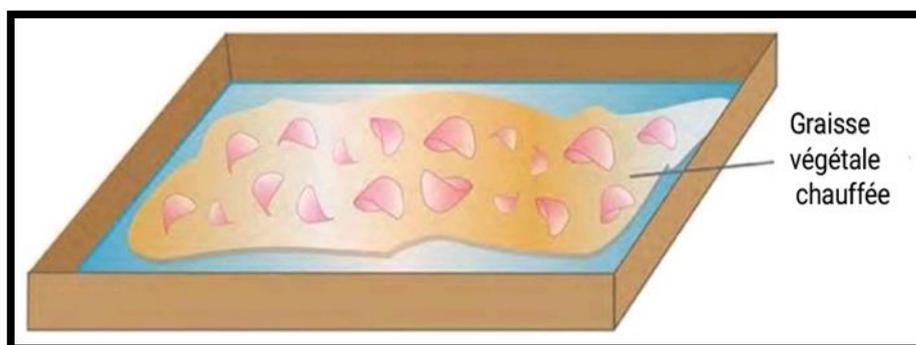


Figure 25 : Schéma du procédé d'enfleurage (Guerrouf, 2017).

II.5. Extraction par les fluides supercritique

Il s'agit d'une nouvelle technologie, car les fluides supercritiques ont été considérés comme une méthode alternative pour l'extraction des HEs. De plus, c'est une technologie coûteuse car l'appareillage est assez coûteux et doit pouvoir supporter des pressions allant jusqu'à 300 bar en toute sécurité et permettre ainsi un éclatement des poches à essence et un entraînement des substances aromatiques (**King, 2004**). Il utilise les fluides à l'état supercritique pour extraire les composants contenus dans les végétaux (**Bruneton, 1999**). L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique (plus de 74 bar et de 31°C), caractérisé par une température et une pression où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvatation accru (**Figure 26**) (**Perrut, 1999 ; Leszczynska, 2007**).

Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone (**Pellerin, 1991 ; Pellerin, 2001**). Le CO_2 est thermodynamiquement stable, il s'agit d'un produit naturel, inerte chimiquement, ininflammable, non toxique, facile à éliminer totalement, aisément disponible, peu réactif chimiquement et enfin peu coûteux (peut être facilement obtenu à partir de sources volcaniques). Le CO_2 a également la capacité de fournir des extraits de compositions très proches de celles obtenues par les méthodes décrites dans la pharmacopée européenne. Son point critique est de $P = 73,6$ bar et $T = 31,4$ °C (**Keville et Green, 1995 ; Baysal et Starmans, 1999 ; Pellerin, 2001**).

Le principe général de la méthode est le suivant : Le CO_2 , porté aux conditions de température et de pression souhaitées (haute pression qui ainsi dissout l'essence pour être ensuite très facilement séparée), chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques par un éclatement des poches à essence et un entraînement des substances aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, c'est simplement en abaissant la pression et le CO_2 repasse à l'état gazeux, ou est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré (**Fernandez et Chemat, 2012**).

Le principal avantage de cette technique est celui de combiner les caractéristiques des gaz et des liquides pendant le processus d'extraction, la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant par simple compression détente, et la possibilité de travailler à basse température. Cette méthode d'extraction a rapidement fait ses preuves pour la récupération de composés thermosensibles à haute valeur ajoutée (Reverchon et De Marco, 2006 ; Piochon, 2008).

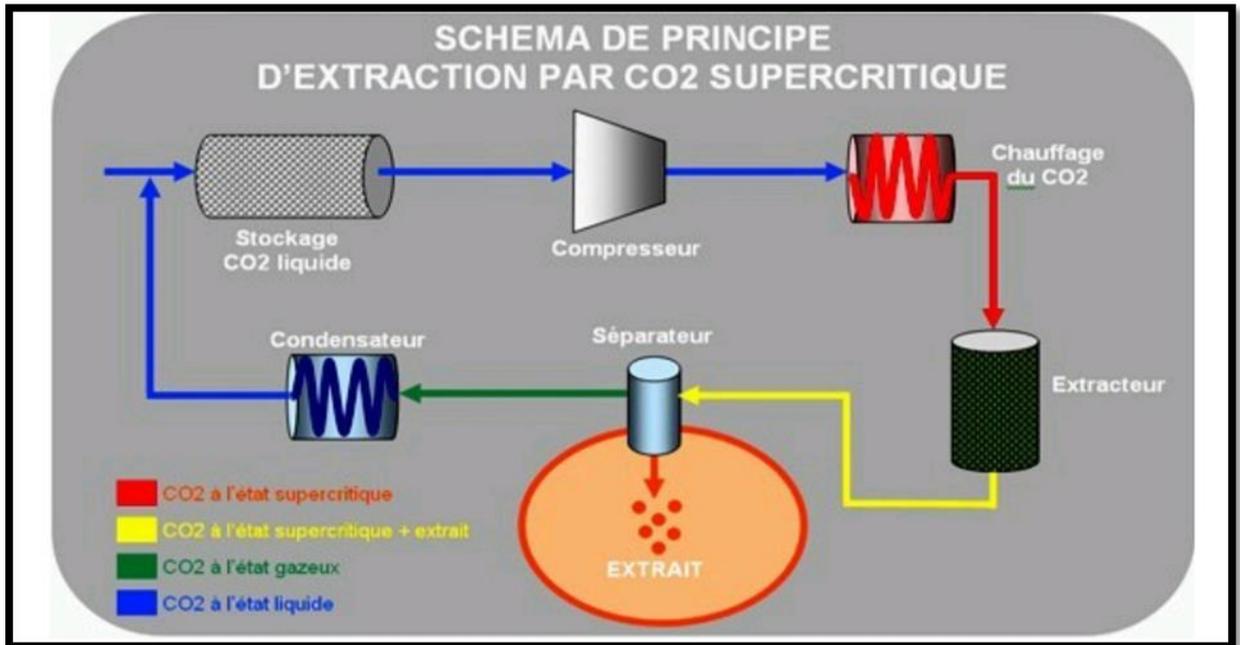


Figure 26:Schéma de la technique Extraction par les fluides supercritique

(Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

Les avantages et les inconvénients des différents procédés d'extraction conventionnels et innovants sont décrits dans **la figure 27**.

A titre indicatif les plantes ayant fait l'objet d'une extraction de leurs HEs par le procédé HD et SFME, accompagnées des conditions opératoires d'extraction, sont regroupées dans **le tableau 04**.

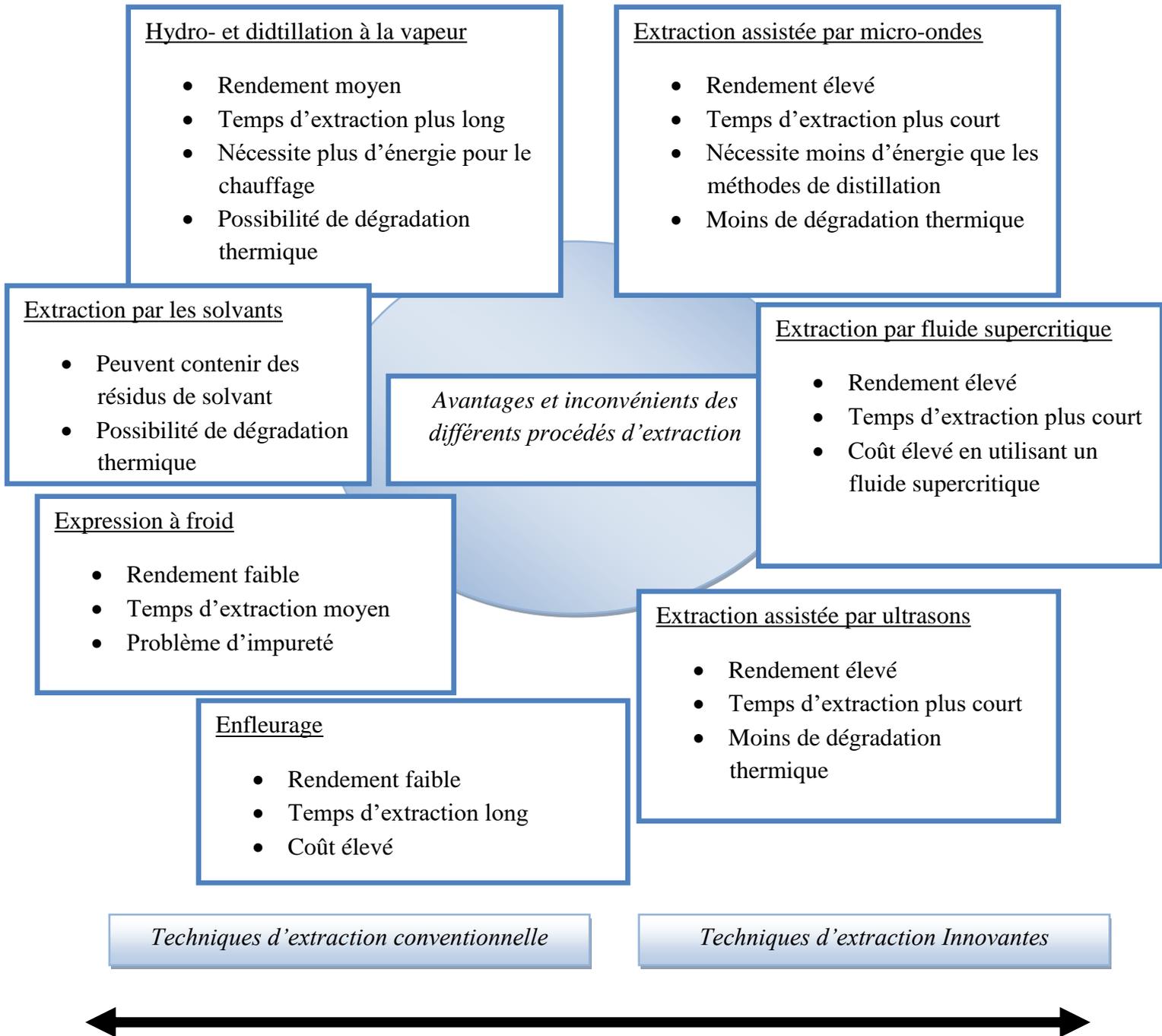


Figure 27: Avantages et inconvénients des différents procédés d'extraction conventionnels et innovants (Park; Tak, 2016).

Tableau 04 : Données de la littérature de quelques HES extraites par HD et SFME (Mohammed CHENNI, 2016).

Noms des plantes	Condition opératoires d'extraction	Références
Pamplemousse <i>Citrus paradisi L.</i>	250g (250g + 2 l'eau HD), P (atm), 85 W, $t = 20 \text{ min (180 min HD)}$ Rdt= 0.44 % (0.42 % HD)	(Uysal et al., 2011)
Fougère <i>Dryopteris fragrans L.</i>	200g imbibé dans l'eau pour 1 h (200g + 1.4 l'eau HD), P (atm), 520 W, $t = 34 \text{ min (5 h HD)}$ Rdt= 0.33 % (0.29 % HD)	(Li et al., 2012)
Myrte <i>Myrtus communis L.</i>	200g (200g + 1.5 l'eau HD), P (atm), 1 KW, $t = 30 \text{ min (180 min HD)}$ Rdt= 0.33 % (0.32 % HD)	(Berka-Zougali et al., 2012)
Romarin <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	200g (200g + 2 l'eau HD), P (atm), 1000 W, $t = 30 \text{ min (3 h HD)}$ Rdt= 0.56 % (0.57 % HD)	(Tigrine-Kordjani et al., 2012)
Romarin <i>Rosmarinus officinalis L.</i>	150g (1000g + 7 l'eau HD), P (atm), 150 W, $t = 30 \text{ min (2 h HD)}$ Rdt= 0.54 % (0.57 % HD)	(Filly et al., 2014)
Pin maritime <i>Pinus pinaster.</i>	150g (500g + 9 l'eau HD), P (atm), 600 W, $t = 60 \text{ min (8 h HD)}$ Rdt= 0.27 % (0.26 % HD)	(Meullemiestre et al., 2014)
Pois d'Angole <i>Cajanus cajan L. Millsp.</i>	200g imbibé dans l'eau pour 1 h (200g + 1.5 l'eau HD), P (atm), 660 W, $t = 44 \text{ min (5 h HD)}$ Rdt= 0.33 % (0.29 % HD)	(Qi et al., 2014)
Millepertuis <i>Hypericum perforatum L.</i>	100g imbibé dans l'eau pour 1 h (100g + 2 l'eau HD), P (atm), 468 W, $t = 33 \text{ min (4 h HD)}$ Rdt= 0.36 % (0.08 % HD)	(Abdelhadi et al., 2015)
Galbanum <i>Ferula gummosa Boiss.</i>	50g imbibé dans l'eau pour 1 h (150g + 2 l'eau HD), P (atm), 800 W, $t = 30 \text{ min (3.5 h HD)}$ Rdt= 0.4 % (0.32 % HD)	(Mohammaddhosseini et al., 2015)
Fenouil <i>Foeniculum vulgare Mill.</i>	100g imbibé dans l'eau pour 1 h (100g + 1 l'eau HD), P (atm), 600 W, $t = 37 \text{ min (3 h HD)}$ Rdt= 0.46 % (0.46 % HD)	(Benmoussaa et al., 2016)
Lavande <i>Lavandula hybridia L.</i>	125g imbibé dans l'eau pour 10 min (250g + 3 l'eau HD), P (atm), 500 W, $t = 30 \text{ min (90 min HD)}$ Rdt= 5.4 % (4.55 % HD)	(Filly et al., 2014)

III. Conservation des huiles essentielles

Selon Lobstein (1983), La conservation des huiles essentielles s'avère très délicate. La relative instabilité des molécules constitutives des huiles essentielles rend leurs conservations difficiles.

Si bien que l'huile essentielle ne dépasse pas une année, sans subir d'importantes modifications physico-chimiques. Une meilleure préservation de sa qualité nécessite le respect de certaines règles élémentaires de stockage : conservation sous atmosphère d'azote, utilisation de flacons de faibles volumes, emploi de flacons en verres brun, en aluminium ou en acier inoxydable, stockage à basse température.

Selon Longevialle (1981), Mayer (2012), Nguemtchouimbouga (2012), Les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne se conservent pas plus de 2 ans). Il est recommandé de les stocker dans des flacons en verre ambre ou foncé (flacon en aluminium ou en verre teinté), de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air (évitant une polymérisation éventuelle), il faut bien refermer les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère (les huiles essentielles sont volatiles). Les flacons doivent être stockés en position verticale.

Selon Lobstein (1983), L'un des moyens le plus efficace pour protéger une huile essentielle est d'y ajouter des substances capables d'interférer avec les réactions oxydantes. C'est le cas de l'acide citrique, employé pour la conservation des huiles essentielles utilisées dans l'alimentation et du sel dipotassique de l'éthylène diamine tétracétique (EDTA) pour celles non utilisées dans l'alimentation.



Figure 28 : flacon sombre pour la conservation des huiles sensibles à la lumière (**Moria et al., 1987**).

Chapitre III
Méthodes de Purification et
Identification des HEs

I. Purification des HEs

Dans le but de séparer et purifier les principaux constituants des HEs, nous avons eu recours à méthodes diverse (CPG, CCM, CLHP).

I.1. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une méthode d'analyse qui s'applique aux composés susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle permet ainsi l'examen de mélanges pouvant être très complexes et dont les constituants diffèrent tant par leur nature que par leur volatilité (**Laforet, 2012**). C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des HEs, car elle permet d'effectuer l'individualisation des nombreux composés volatils contenus dans les HEs à partir d'échantillon de l'ordre du milligramme voire du microgramme (**Arpino et al., 1995**).

En général, le principe de la chromatographie est basé sur la répartition des constituants à séparer entre deux phases non miscibles; l'une des deux est une phase stationnaire avec une grande surface spécifique, tandis que l'autre est une phase mobile qui passe à travers la phase stationnaire dans une direction précise (**Bouchonnet, 2009 ; Zellner et al., 2016**). Dans l'analyse CG, Le principe de séparation repose sur une différence de répartition des composés d'un mélange entre deux phases, la phase stationnaire (imprégné dans la colonne), la phase mobile. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne. Ensuite, Les composants du mélange injecté dans la colonne sont poussés dans celle-ci par le gaz vecteur (par exemple H₂, N₂, He, Ar...) interagissent différemment avec la phase stationnaire et de ce fait leur progression dans la colonne ne se fera pas à la même vitesse (Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps) (en fonction de leurs pressions relatives de vapeur (volatilité)) (**Figure29**) (**Burgot, 2011**). Lorsque les analytes arrivent au niveau du détecteur (le détecteur à ionisation de flamme « DIF ou FID » est le plus fréquemment utilisé), un signal est enregistré générant un chromatogramme sous forme de pics qui sont caractérisés par un temps de rétention. Chaque pic est caractérisé par un temps de rétention (qui correspond au temps écoulé entre l'injection de l'analyte et l'instant de son arrivée au détecteur) (**Bouchonnet, 2009 ; Zellner et al., 2016**).

Bien que la CPG reste l'une des techniques d'analyse les plus utilisée, car les temps de rétention donnent une information sur la nature des molécules et les aires des pics

fournissent une quantification relative, l'identification des constituants d'une huile essentielle est difficilement réalisable uniquement par CPG. En effet, le temps de rétention, propre à chaque composé qui dépend des conditions opératoires (nature de la phase stationnaire, programmation de la température, vieillissement de la colonne, etc.), ne représente pas une base suffisante pour une identification. La CPG s'est rendue indispensable pour son coût acceptable, ses possibilités d'automatisation, sa robustesse, sa reproductibilité et sa modulabilité (Fernandez et Chemat., 2012).

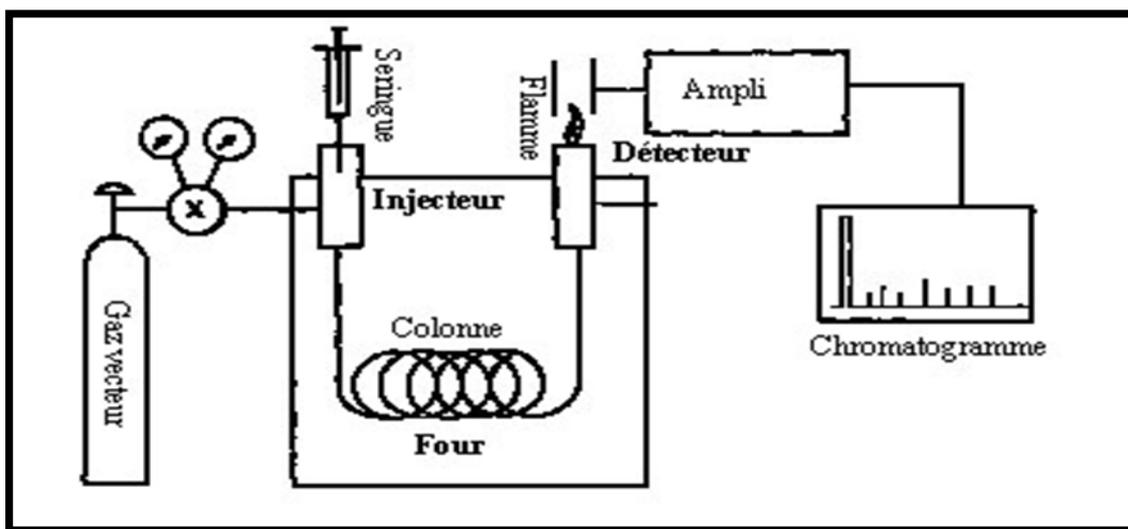


Figure 29 : Chromatographie en phase gazeuse (Rouessac et al., 2007).

Selon CHENNILM, 2016 : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse a été effectuée sur un appareil de marque Agilent 6890N en utilisant deux colonnes capillaires, l'une polaire (HP-INNOWAX) et l'autre apolaire (HP-1). Les conditions opératoires sont regroupées dans le **tableau 05**.

Tableau 05 : Conditions opératoires de l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CPG).

Paramètres		
Colonne capillaire	HP-1	HP-INNOWAX
Phase stationnaire	Polydiméthyle siloxane	Polyéthylène glycol
Longueur	50 m	50 m
Diamètre interne	0.20 mm	0.20 mm
Épaisseur de phase	0.33 µm	0.4 µm
Température du détecteur	250 °C	250 °C
Température de l'injecteur	250 °C	250 °C
Gaz vecteur	Hélium	Hélium
Débit	1 ml/min	1ml/min
Programmation du four	2°C/min de 45°C à 250°C 60 min à 250°C	2°C/min de 45°C à 250°C 60 min à 250°C
Concentration des échantillons	Pur	Pur
Quantité injectée	1.0 µl	1.0 µl
Mode d'injection	Split 1: 100	Split 1: 100

- Exemples d'un Huile essentielle de coriandre selon OUIS, 2015 :

Le chromatogramme de l'H.E des graines de coriandre (**Figure 30**) révèle 15 pics dont les majoritaires sont mentionnés dans le **Tableau 06**.

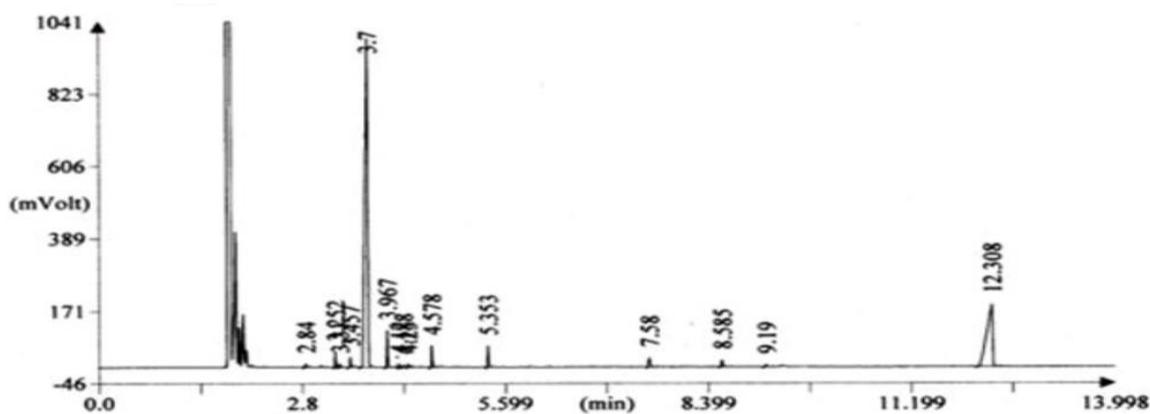


Figure 30 : Chromatogramme analytique de l'H.E des graines de coriandre, obtenu par CPG.

Tableau 06 : Analyse par CPG de l’H.E de graines de coriandre.

N° de pic	Tr	%	Composés identifiés
1	2.48 0.26		α- pinène
2	3.25	1.11	-
3	3.31	0.29	Limonène
4	3.46	0.75	-
5	3.70	63.50	Linalol
6	3.97	2.69	Camphre
9	4.25	0.49	-
10	4.58	1.79	Géraniol
11	5.35	1.72	-
12	7.58	1.11	-
15	12.31	24.61	-

○ Autre exemple (Grob, 2004) :

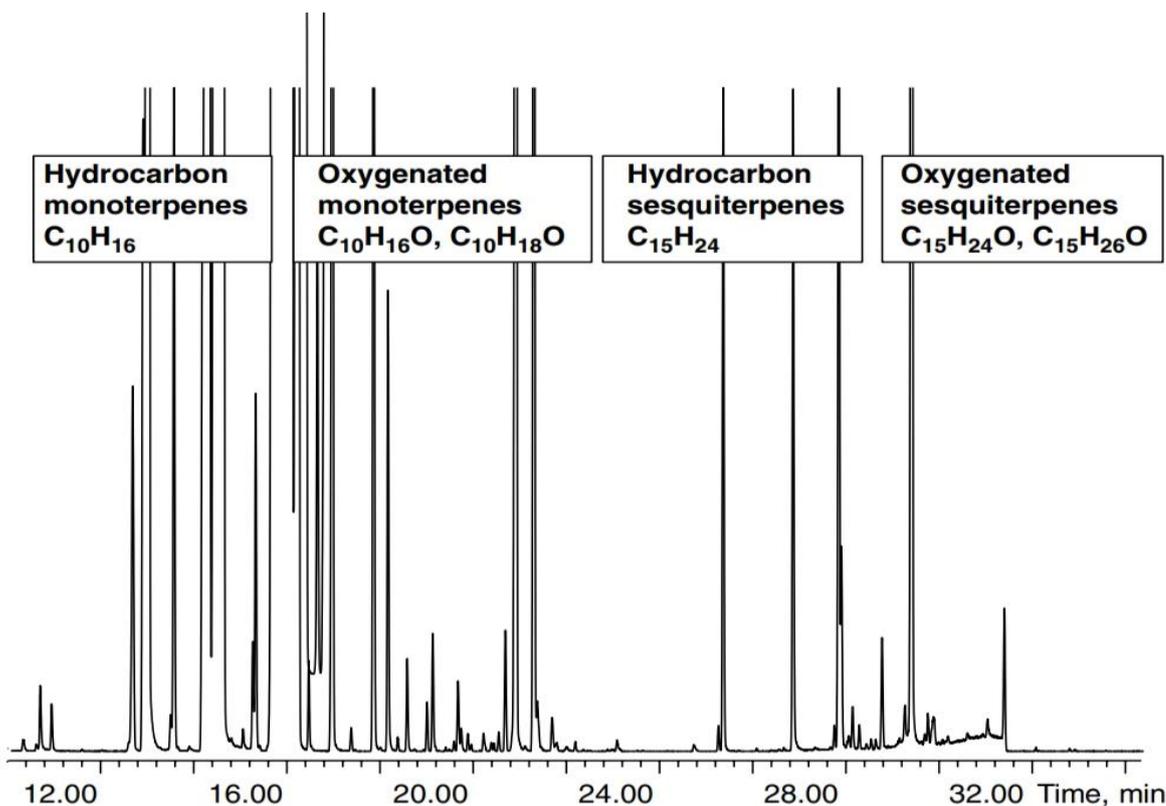


Figure 31 : Chromatogramme typique obtenu par CG-DIF de l'huile essentielle hydrodistillée à partir d'écorces de *Swinglea glutinosa* (famille des Rutacées). Colonne capillaire non polaire de 30 m. Ordre caractéristique d'éluion selon l'augmentation du temps de rétention des composants, comme suit : monoterpènes hydrocarbonés → monoterpènes oxygénés → sesquiterpènes hydrocarbonés → oxygénés.

I.2. Chromatographie sur couche mince (CCM)

Chromatographie en couche mince ou CCM, est une technique chromatographique préparation facile et rapide d'exécution; ce qui rend particulièrement adapté pour l'exécution d'évaluations qualitatives ou semi-quantitatives, ainsi que pour suivre une réaction chimique au cours de son développement (**Uhlmann et Ebel, 1993**).

Elle autorise également une analyse sans chauffage et permet donc d'éviter d'éventuelles dégradations qu'il entraînerait. Il est basé sur la répartition différente des différentes substances entre un stationnaire et une phase mobile, en fonction de l'affinité de chaque substance avec eux, Comme avec toute chromatographie.

La phase stationnaire est généralement une couche ayant une épaisseur uniforme d'environ 1 mm de matériau adsorbant, déposé sur une dalle de verre. Le matériau adsorbant peut être gel de silice, alumine, cellulose de poudre, En fonction de l'application requise. La phase mobile est un solvant choisi de façon appropriée (ou un mélange de solvants), capable de séparer les composants du mélange à analyser (**Van et al., 1989, Nicoletti et Toniolo., 2012**).

On réalise une chromatographie sur couche mince pour séparer et identifier les huiles essentielles précédemment extraites. Préparer les cuves à chromatographie en versant au fond un peu d'éluant, sur une hauteur d'un demi-centimètre environ. L'éluant est un mélange constitué en volume, de 5% d'acétate d'éthyle et 95% de toluène. Placer contre les bords de la cuve un morceau de papier filtre : l'éluant va monter par capillarité et assurera ainsi une meilleure saturation de la cuve. La saturation est nécessaire pour éviter l'évaporation de l'éluant pendant son ascension le long de la plaque. Fermer la cuve (**Smith et al., 1982**).

A environ un centimètre du bord de la plaque de chromatographie, tracez un trait fin au crayon, sans appuyer, afin de ne pas abîmer la couche d'adsorbant. Ce trait (ligne de base) servira de repère pour déterminer les longueurs de migration; Marquer délicatement deux, trois ou quatre points sur la ligne de base, qui serviront à repérer la position des dépôts du mélange d'huiles essentielles et des solutions de référence. Ces points doivent être à environ un demi centimètre du bord de la plaque, et séparés entre eux par la même distance (**Tal et Robeson, 1986**).

A l'aide d'une pipette pasteur, déposer une goutte de la solution S sur le premier point, une goutte de la solution S1 sur le deuxième point, etc..., tant que le permet la largeur de la plaque. Faire sécher la plaque. Lorsque la plaque est sèche, la placer au milieu de la

cuve, en appui sur le bord supérieur, en veillant à ce qu'elle ne touche pas les parois verticales. Attention : la ligne de base doit être suffisamment au-dessus de l'éluant pour que celui-ci ne dissolve pas les produits déposés.

Observer la montée de l'éluant sur la plaque. Sortir celle-ci lorsque le solvant est arrivé à environ un centimètre du bord supérieur. Marquer rapidement, mais avec précision, le front du solvant et sécher la plaque (**Smith *et al.*, 1982**).

Les huiles essentielles n'étant pas colorées, n'apparaissent pas sur la plaque : on doit utiliser un révélateur afin de repérer leur migration. Ce révélateur est la vanilline sulfurique.

Préparation : dissoudre 1g de vanilline dans 100ml d'éthanol à 95° puis placer le récipient dans un bain de glace et ajouter avec précaution 2ml d'acide sulfurique concentré. Ce révélateur est pulvérisé sur la plaque de chromatographie. La pulvérisation doit être légère pour ne pas laver la plaque. Faire ensuite sécher la plaque et la placer au-dessus de la plaque chauffante : on voit apparaître en quelques minutes les taches de migration des différents constituants (**Schafer, 1994**).

Marquer les fronts de migration des différents constituants puis calculer les rapports frontaux. Identifier la nature des différentes huiles essentielles qui constituent le mélange en comparant leurs rapports frontaux avec ceux des huiles témoins.

Cette méthode est perfectionnée et on parle de chromatographie sur couche mince de haute performance (**CCMHP, illustrée dans la figure 32**). Son automatisation la rend très rapide, répétable et reproductible. Elle permet maintenant des études tant qualitatives que quantitatives et permet même la purification de composés. D'une manière générale, l'adaptation de cette méthode aux technologies actuelles a grandement augmenté sa résolution, bien qu'elle reste inférieure à celle de la CPG (**Robin, 2017**).

La CCM, et sa version améliorée que représente la CCMHP, sont des méthodes parfaitement adaptées aux huiles essentielles, notamment pour la comparaison de deux huiles d'origines différentes ou mettre rapidement en évidence une adultération (**Rheum, 2009 ; Nicoletti, 2012**).

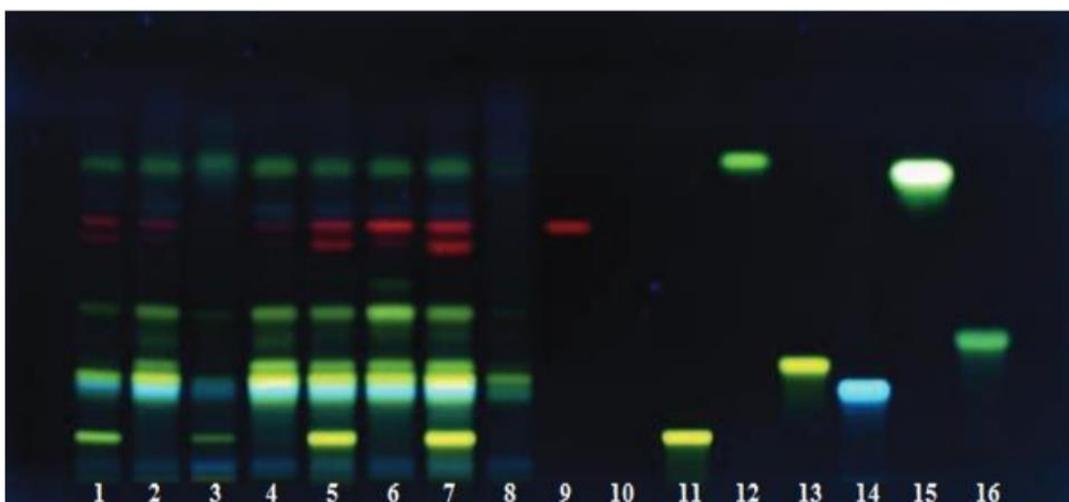


Figure 32 : Illustration d'une CCMHP : Comparaison d'extraits de millepertuis (*Hypericum perforatum* L.) issus de différentes régions d'Italie (1 à 8) à différents témoins: 9-hypericine, 10-hyperoside, 11-rutine, 12-quercetine, 13- isoquercetine, 14-acide chlorogénique, 15-lutéoline, 16-apigénine (Nicoletti et Toniolo, 2012).

I.3. La chromatographie liquide à haute performance (CLHP) :

La chromatographie liquide haute performance (CLHP) est technique séparation analytiques basée sur l'hydrophobicité des molécules d'un composé ou d'un mélange de composés, qui utilisent l'affinité intrinsèque d'un composé à la fois pour une « phase mobile » et une « phase stationnaire ».

Une pompe est utilisée pour fournir un flux continu d'un solvant dans lequel un échantillon dissous est introduit (Moestra et Grisebach, 1982).

Une fois que l'échantillon dissous est introduit, il passe sous haute pression au travers de la colonne analytique contenant la phase stationnaire, et les analytes contenus dans le mélange d'échantillons dissous sont ensuite séparés, en fonction de leur affinité pour les particules enrobées dans la colonne.

Une fois les composants de l'échantillon séparés, ils peuvent passer à travers un assortiment de détecteurs, comme détecteur à barrettes de diodes PDA (Figure 33).

La réponse du détecteur et le « temps de rétention » (temps nécessaire à un composé pour passer de l'injecteur au détecteur) du ou des composés d'intérêt peuvent alors être comparés à un matériau de référence (Sztejnberg *et al.*, 1989).

L'utilisation de la CLHP dans le domaine des huiles essentielles a été délaissée en faveur de la CPG aux résultats probants. Cependant l'analyse par CLHP à un certain

nombre d'avantages, notamment lors de la recherche de composés thermolabiles c'est à-dire difficiles à analyser par CPG. La principale limitation de cette technique réside dans la méthodologie d'analyse des terpénoïdes qui nécessitent un facteur de rétention se trouvant dans un intervalle étroit (Nishii *et al.*, 1997).

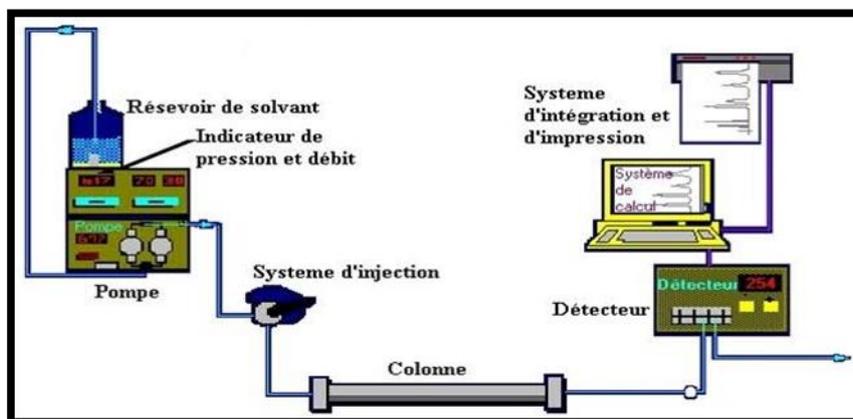


Figure 33 : La chromatographie liquide à haute performance (Sztejnberg *et al.*, 1989).

- Exemple de séparation par CLHP selon Bousbia (2011) :

Les analyses par CLHP sont effectuées en utilisant un chromatographe liquide de marque Waters (Milford, MA). Le système CLHP est équipé d'une pompe Waters 600E, d'un auto-injecteur Waters 717, d'un détecteur à barrette diodes. La pompe, l'auto-injecteur, la température de la colonne et le système à barrette de diodes sont contrôlés par le logiciel Waters Empower 2. Les longueurs d'ondes utilisées sont de 284 et 329 nm pour la quantification des polyphénols du romarin. La séparation chromatographique s'effectue avec une colonne Purospher Star RP-18 (250 x 4 mm D.I. ; dont la dimension des particules est de 5 μm (VWR)), et est munie d'une pré-colonne RP-18 (4 x 4 mm D.I.). La colonne et la pré-colonne sont tout es deux maintenues à la température de 37°C. La phase mobile dont le débit est de l'ordre de 1 mL /min, est constituée de deux solvants : solution aqueuse (pour clhp) contenant 0,5 % acide acétique (Solvant A) et 100 % d'acétonitrile (Solvant B). La programmation des solvants est la suivante (Tableau 07) :

Tableau 07: Programmation des taux de solvants utilisés au cours de l'analyse par CLHP.

Temps (min)	Solvant A (%)	Solvant B (%)
0	90	10
20	70	30
25	65	35
30	65	35
35	90	10

Les surfaces des pics sont utilisées pour quantifier les composés dans l'échantillon. Une analyse de régression linéaire est réalisée sur les données de la surface du pic par rapport à la concentration.

- Selon Benincasa (1990) :

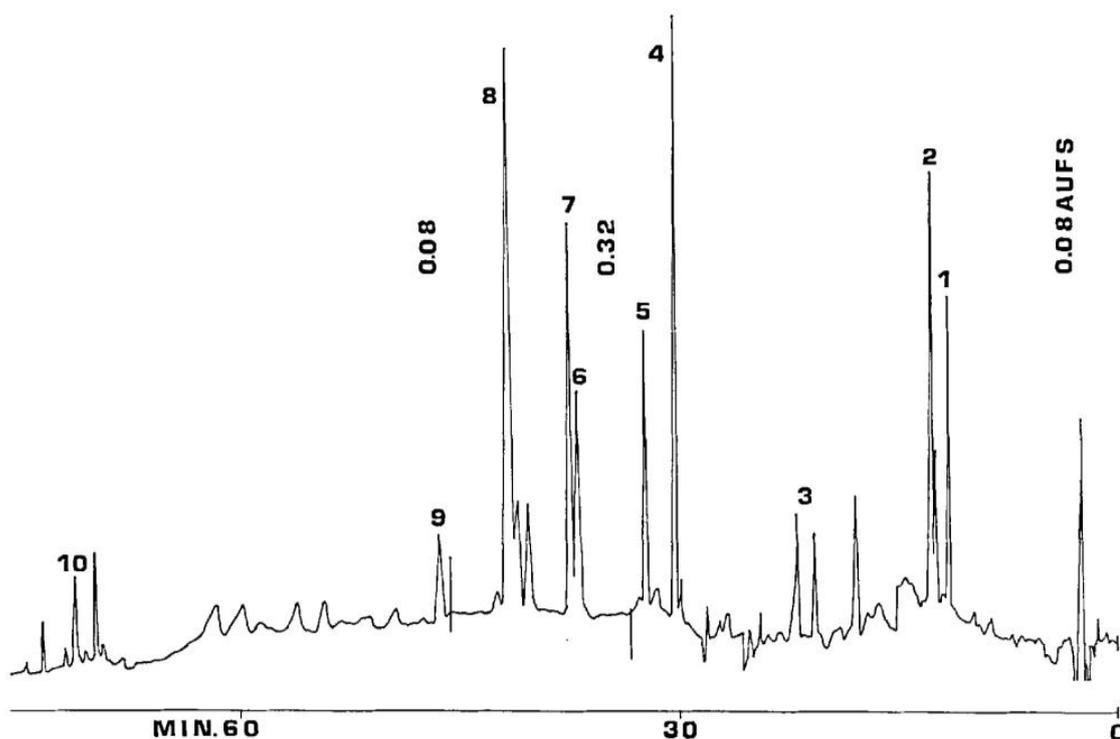


Figure 34: Chromatogramme de l'huile essentielle de bergamot par CLHP. Colonne n° 3 débit 200 µl min⁻¹. Gradient d'élution = 5,7-1=diméthoxycoumarine ; 2 = bergapten ; 3 = citral ; 4 = acétate de géranyle ; 5 = +/-terpinène ; 6 = sabinène ; 7 = myrcène ; 8 -- limonène et J3 pinène ; 9 = c~-pinène ; 10 = caryophyllène.

II. Identification des HEs

Une parfaite connaissance de la composition chimique des huiles essentielles est nécessaire afin de les caractériser, de mettre en évidence une éventuelle spécificité locale et d'en évaluer la qualité en vue d'une bonne commercialisation.

En effet, les essences végétales présentent un grand intérêt en pharmacie, en alimentation, en parfumerie et en cosmétique. Pour cela, l'analyse des HEs reste une étape importante nécessitant la mise en œuvre de diverses techniques.

Dans le but d'identifier les principaux constituants des HEs, nous avons eu recours aux méthodes chromatographiques divers (CPG/MS, CPG/IRTF, CPG-IRTF-SM, CLHP-SM, CPG-CLHP-SM, CLHP-RMN 1H et RMN du 13C).

II.1. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) :

Les premiers appareils de routine CPG/SM à colonnes capillaires datent de 1975. Depuis, cette méthode de couplage n'a cessé d'évoluer et a trouvé de nombreuses applications dans les domaines de l'agroalimentaire (aliments, eau), des produits pétroliers (carburants, matières synthétiques), des produits naturels (parfumerie, cosmétique, médecine), etc. (McLafferty, Michnowicz., 1992). Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CPG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence (Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996).

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse est une méthode d'analyse qui combine les performances de la chromatographie en phase gazeuse et de la spectrométrie de masse afin d'identifier et/ou de quantifier précisément de nombreuses substances. La méthode est basée sur la séparation des constituants à l'aide de la CPG et leur identification par le biais de la SM (Figure 35).

Le potentiel de la CG couplée à la SM est bien connu pour la détermination des composés volatils contenus dans les échantillons complexes de parfums, d'arômes et d'HEs (Constantin, 1996).

L'identification est réalisée par comparaison des indices de rétention (Ir) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres. L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé. Il s'agit de la

technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielle en raison en grande partie de la facilité de prise en main des systèmes de séparation et de détection performants, avec un cout relativement faible.

La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « banques de données » de référence permet son identification (**Maack et al., 1997**).

Il existe deux modes d'ionisation :

L'ionisation par impact électronique (IE) et l'ionisation chimique (IC). Dans ce dernier cas, on distingue l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

II.1.1. CPG/SM en mode Impact électronique (CPG/SM-IE) :

En mode impact électronique, le bombardement de substances par un faisceau d'électrons de l'ordre de 70eV provoque leur ionisation et leur fragmentation. Les fragments ioniques positifs forment alors le spectre de masse caractéristique du composé. Les spectres de masse ainsi obtenus sont comparés avec ceux des produits de référence contenus dans la banque de données.

Les systèmes actuels de CPG/SM sont très performants pour la séparation, la détection et l'identification des molécules. Néanmoins, en mode IE, il existe des difficultés qui sont dues :

- à la similitude des spectres de masse. C'est le cas de molécules proches d'un point de vue structural comme les quatre isomères du menthol ou du farnésol (**Masada, 1976 ; Coleman et al., 1989**) ou les acétates d'isobornyle et de bornyle qui ne diffèrent que par la configuration du carbone asymétrique portant le groupement fonctionnel.
- à la faible intensité voire l'absence du pic moléculaire sur le spectre de masse,
- à la Co-élution des composés ou à la mauvaise résolution de certains pics chromatographiques.

II.1.2. CPG/SM en mode Ionisation Chimique (CPG/MS-IC) :

Par définition, l'ionisation chimique c'est des réactions ions molécules entre des molécules de l'échantillon en phase gazeuse et les ions d'un plasma obtenus à partir d'un gaz réactif.

Cette technique, de mise en œuvre aisée avec un appareil équipé d'une source à ionisation chimique (en série sur la plupart des appareils récents), a trouvé de nombreuses

applications chimiques et biochimiques dans les domaines de l'environnement et du médical (Masada, 1976).

Le spectre de masse enregistré dans ces conditions était invariablement contaminé par des pics correspondant à des masses élevées dus aux impuretés présentes dans le gaz. Ils portèrent leur attention non plus sur le gaz méthane ou isobutane, mais sur ces impuretés, ils en déduisirent les principes d'une nouvelle méthode générale d'analyse en spectrométrie de masse. Bien qu'elle permette l'étude de certaines substances minérales, c'est en chimie organique que les applications ont été les plus nombreuses (Coleman *et al.*, 1989).

On distingue l'ionisation chimique positive (ICP) et l'ionisation chimique négative (ICN).

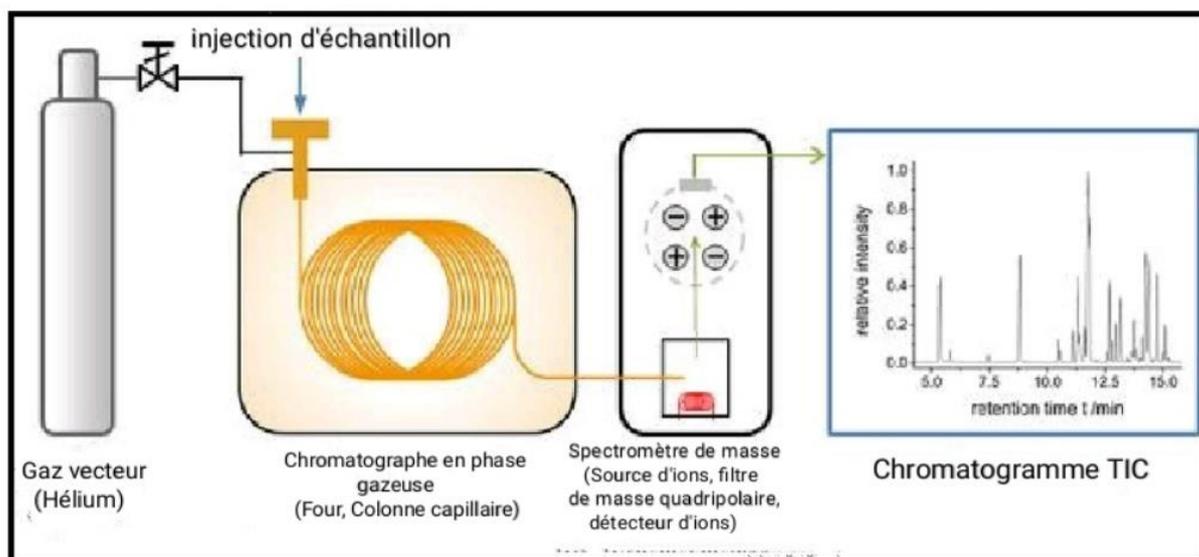


Figure 35: Schéma de couplage CPG/SM

Selon Mohammed Chenni, 2016 : L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse a été effectuée sur un appareil Agilent 6890N couplé à un spectromètre de masse Agilent 5973 SM (Agilent, Massy, France) en utilisant deux colonnes capillaires, l'une polaire (HP-INNOWAX) et l'autre apolaire (HP-1). Les conditions opératoires sont regroupées dans le tableau 08.

Tableau 08 : Conditions opératoires de l'analyse en CG/SM.

Paramètres		
Energie d'ionisation	70 eV	70 eV
Masse d'électron d'ionisation	35-400 amu	35-400 amu
Colonne capillaire	HP-1	HP-INNOWAX
Phase stationnaire	Polydiméthyle siloxane	Polyéthylène glycol
Longueur	50 m	50 m
Diamètre interne	0.20 mm	0.20 mm
Epaisseur de phase	0.33 µm	0.4 µm
Température de l'injecteur	250 °C	250 °C
Température de la source d'ion	250 °C	250 °C
Température de la ligne de transfert	250 °C	250 °C
Gaz vecteur	Hélium	Hélium
Débit	1 ml/min	1ml/min
Programmation du four	2°C/min de 45°C à 250°C ou 230 °C 20 min à 250°C	2°C/min de 45°C à 250°C ou 230 °C 20 min à 230°C
Concentration des échantillons	Pur	Pur
Quantité injectée	1.0 µl	1.0 µl
Mode d'injection	Split 1: 100	Split 1: 100

Selon (Zygodlo, 1994) : *Tagetes minuta* L: est une plante aromatique indigène d'Amérique du Sud, L'identification des composants des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM) à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Agilent 6890 avec détecteur de masse sélectif Agilent 5973, une colonne capillaire de HP-5MS (30 m x 0,25 mm i.d. x 0,25 µm d'épaisseur de film) et un injecteur split/splitless, avec un système d'injection automatique ALS Agilent 7683, et le programme Library NIST Mass Spectral Search, version 1.6d. Les conditions de travail étaient : injection fractionnée ; rapport 70:1, injection de 0,2 µl. Le test a été effectué à 250°C, le four à 50°C initial pendant 2 minutes augmentant de 10°C par minute jusqu'à ce que 200°C soient atteints. Le débit était de 0,7 µl/min à une vitesse constante de 30 cm/s avec une interface à 250°C.

La figure 36 montre un chromatogramme de l'huile essentielle de *Tagetes minuta*, dans lequel une séparation efficace des différents composants, y compris les isomères géométriques tels que le cis et le trans-tagétone (pics 6 et 7) a été obtenue.

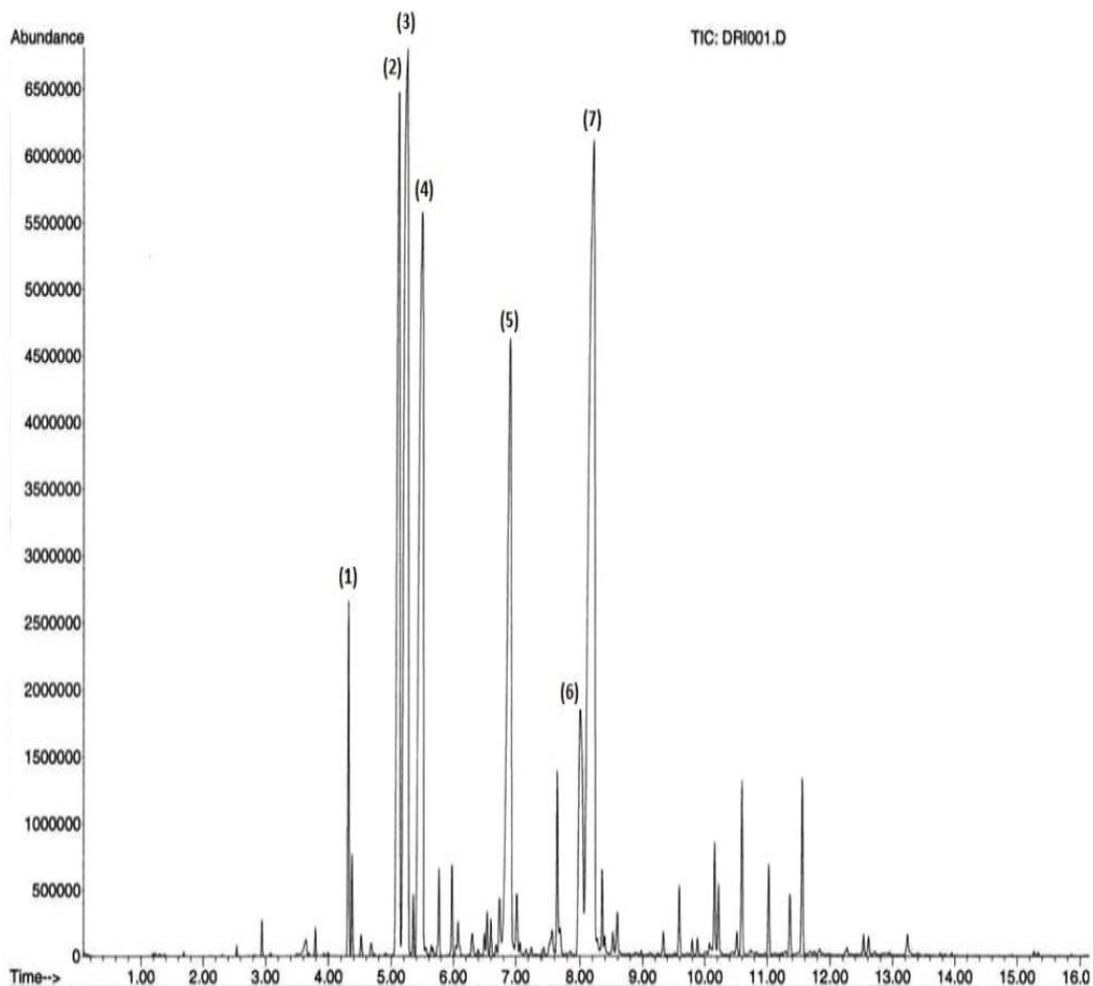


Figure 36: Chromatogramme d'huile essentielle de *Tagetes minuta* réalisé à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse-spectrométrie de masse Agilent 6890 avec une colonne capillaire de HP-5MS. Composants : β -phélandrène (1), limonène (2), β -ocimène (3), dihydrotagétone (4), tagétone (5), cis- tagéténone (6) et trans-tagéténone (7).

Selon Grob et Barry, 2004) :

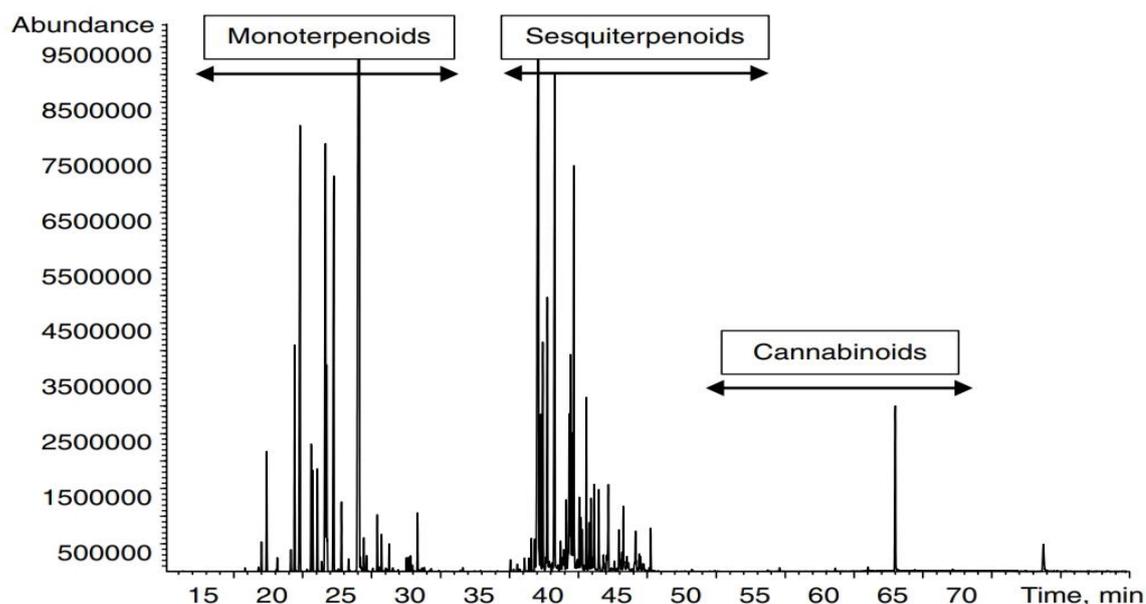


Figure 37: Un chromatogramme typique a été obtenu par CG-SM (ionisation électronique, 70 V) pour l'huile essentielle distillée avec l'eau des fleurs de *Cannabis sativa*. Trois familles de composés, à savoir les monoterpénoïdes, les sesquiterpénoïdes et les cannabinoïdes.

II.2. Les couplages CPG-IRTF et CPG-IRTF-SM :

Le couplage de la CPG avec un spectromètre infrarouge par transformée de Fourier (CPG/IRTF) est une technique particulièrement intéressante lorsqu'il s'agit d'analyser des composés fonctionnalisés en permettant d'identifier des molécules dont les spectres de masse ne sont pas suffisamment différenciés par exemple les isomères du farnésol et du menthol (Coleman *et al.*, 1989). Il s'applique à l'analyse de diverses familles de composés : les produits pétroliers et leurs additifs, les arômes, les essences naturelles (comme les huiles essentielles), les produits de synthèse (Job *et al.*, 1998 ; Thomaidis et Georgiou, 1999).

A titre d'exemple, le couplage CPG/IRTF s'est avéré déterminant pour l'identification du (E,E)2,4-tridécadienal présent dans l'huile essentielle de *Bifora radians* (Latrasse *et al.*, 1991). Le spectre obtenu peut être comparé à ceux contenus dans une bibliothèque informatisée de spectres Infrarouge.

Le couplage de la CPG avec l'IRTF a été rendu possible car les limites de détection de l'IRTF ont considérablement été améliorées ces dernières années grâce au développement d'interfaces performantes (**Sasaki et Wilkins, 1999**). Cette technique permet l'analyse des substances volatiles. L'IRTF renseigne, bien entendu, sur les fonctions chimiques présentes dans les molécules. Il différencie les stéréo-isomères géométriques éventuels.

L'IRTF a aussi montré son efficacité dans l'identification de composés susceptibles de subir des transpositions sous l'effet de l'impact électronique. Le développement d'appareils permettant d'atteindre des seuils de sensibilité comparables à ceux de la CPG/SM (**Winkler et al., 1983 ; Gulaçar et al., 1984**) font du couplage CPG/IRTF une technique de plus en plus intéressante dans l'analyse des arômes.

L'appareil de chromatographie peut être couplé en parallèle à la fois au détecteur IR et au spectromètre de masse (**Hedges et Wilkins, 1991**). Ainsi la CG permet dans la grande majorité des cas une individualisation des constituants nécessaire pour une bonne identification et identifier d'un nombre important de produits.

L'IRTF a également démontré son efficacité en permettant l'identification du germacrène B et du bicyclogermacrène dans les huiles essentielles d'orange et de pamplemousse (**Chamblee et al., 1997**). Cependant dans le domaine des huiles essentielles, le couplage CPG/IRTF doit plutôt être utilisé en complémentarité de la SM et des Indices de rétention, plutôt que comme technique unique d'analyse (**Wilkins, 1994**).

II.3. Les couplages CLHP-SM et CPG-CLHP-SM :

Les composés thermolabiles, polaires et ceux ayant une très haute température de vaporisation sont quelquefois non élués et donc indétectables par CPG. La chromatographie liquide s'adresse donc à ces substances peu ou pas volatiles, thermolabiles ou polaires. Le développement de micro colonnes à très faible débit a rendu possible ce couplage. Ainsi, Le couplage CLHP-SM a été utilisé pour l'identification d'esters sesquiterpéniques, d'alcaloïdes, xanthones, des séco-iridoïdes, dans des extraits méthanoliques de différentes espèces de la famille gentianacées mais aussi des psoralènes et de coumarines et des flavones dans différentes huiles essentielles d'agrumes (**Cremin et al., 1995 ; Mroczek et al., 2004 ; Dugo et al., 2000**). D'autres travaux ont mis en œuvre ce couplage pour l'analyse de terpènes (diterpènes acides ou glycosylés, triterpènes) dans des

extraits au dichlorométhane de plusieurs espèces de Potamogeton (**Waridel et al., 2004**), ou bien encore de composés phénoliques dans des vins rouges de Sardaigne (**Torre et al., 2006**).

La mise en œuvre du couplage de la chromatographie liquide haute performance avec la spectrométrie de masse (CLHP-SM) nécessite de contourner certains problèmes dus aux conditions opératoires des deux techniques : haute pression, température ambiante et phase liquide pour la CLHP ; vide poussé, température plus élevée et phase gazeuse pour la SM.

Dans le couplage CLHP/CPG/SM, l'utilisation de la CLHP permet un premier fractionnement des constituants du mélange en fonction de la famille à laquelle ils appartiennent. En effet, les constituants sont séparés par classe de composés avant l'introduction dans la colonne capillaire de la CPG, où une nouvelle séparation est réalisée. Ce préfractionnement permet une fiabilité plus grande dans l'identification par SM et a donné d'excellents résultats dans l'analyse des huiles essentielles de diverses variétés d'agrumes (**Munari et al., 1990 ; Mondello et al., 1995**).

II.4. Le couplage CLHP-RMN 1 H :

La RMN du proton apporte des informations extrêmement précieuses sur la structure des molécules, mais présente l'inconvénient d'être beaucoup moins sensible que les techniques spectroscopiques décrites précédemment (IR et surtout SM). Ainsi, l'utilisation du couplage CLHP- RMN 1H s'est considérablement développée depuis l'apparition d'aimants supraconducteurs de plus en plus performants (jusqu'à 23,5 Tesla) permettant d'abaisser le seuil de détection pour les composés purs à des valeurs de l'ordre du nano gramme (**Korhammer et Bernreuther, 1996**).

Ce couplage a aussi été rendu possible grâce au développement de colonnes capillaires dont la faible consommation en éluant permet d'employer des solvants deutérés, évitant ainsi d'avoir recours à des techniques d'irradiations sélectives (**Wolfender et al., 1998 ; Albert et al., 1999 ; Victoria et Elipe, 2003**).

Les mesures sont effectuées selon deux modes : le «flux stoppé» (stopped flow) et le «flux continu» (continuous flow). Dans le premier mode, l'élution est arrêtée lorsqu'un constituant est présent dans la sonde du spectromètre alors que dans le second,

l'acquisition des données est faite tout au long du passage du flux chromatographique dans la cellule RMN (**Grenier-Loustalot *et al.*, 1990**).

L'utilisation de la CLHP couplée à la RMN s'est révélée efficace pour l'identification de molécules thermosensibles responsables de l'amertume de la bière (**Pusecker *et al.*, 1999**) et de flavonoïdes dans un extrait méthanoliques de feuille de *Sorocea bomplandii* du Brésil (**Andrade *et al.*, 2002**). Plus récemment, la CLHP-RMN 1 H a permis l'identification des produits de dégradation issus de l'acide 5-aminosalicylique dans un médicament générique (**Novak *et al.*, 2006**).

II.5. La Résonance Magnétique Nucléaire RMN :

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) est un outil puissant, non destructif, qui a trouvé des applications diversifiées en chimie, biochimie, biologie ou médecine. Pour le chimiste, la RMN est surtout connue comme un outil privilégié pour la détermination structurale sur un produit purifié ; mais cette technique peut également permettre d'obtenir des informations précieuses pour l'analyse de mélanges. Les médicaments pouvant être considérés comme des mélanges complexes (composés de plusieurs substances différentes avec des constituants pouvant être simultanément présents en grandes et très faibles quantités), la RMN est donc un excellent outil pour l'étude de telles formulations (**Smith, 1982**).

Une alternative aux méthodes d'analyse décrites précédemment est la RMN du carbone-13 des mélanges, sans séparation préalable des constituants. Cette technique, initié par Formáček et Kubeczka (**Formáček et Kubeczka, 1982 ; Kubeczka *et al.*, 1988**), développée par Casanova et al (**Tomi *et al.*, 1995 ; Bradesi *et al.*, 1996**) offre des potentialités fortement intéressantes.

Le principe consiste à attribuer les raies de résonance de chacun des carbones de chaque composé à partir du spectre unique du mélange et de les comparer avec ceux des atomes de carbone de composés purs répertoriés dans la bibliothèque de spectres élaborée au laboratoire de l'équipe à partir d'échantillons authentiques et/ou dans la bibliothèque construite à partir des données décrites dans la littérature (**Bradesi *et al.*, 1996**). Contrairement aux techniques chromatographiques, les constituants ne font pas l'objet d'une individualisation en RMN. Différents aspects sont à considérer, à savoir l'observation et l'individualisation des différentes raies de résonance dans le spectre du

mélange et l'attribution de chacune de ces raies de résonance à un produit donné permettant son identification.

La certitude de l'identification des composés du mélange est rendue possible par la prise en compte des paramètres suivants :

- Le nombre de pics observés par rapport au nombre de pics attendus pour chaque molécule.
- Le nombre de superpositions des signaux pouvant se produire quand les différents effets stériques et électroniques font que deux carbones appartenant à deux molécules différentes ont le même déplacement chimique, ou quand des constituants du mélange ont une partie de leur squelette très proche.
- Les variations des déplacements chimiques des carbones dans le spectre du mélange par rapport aux valeurs de référence.
- L'intensité des raies de résonance observées qui permet éventuellement de contrôler l'appartenance du signal d'un carbone à un composé donné.

L'objectif de cette méthode est donc d'éviter, ou tout au moins de réduire, les étapes fastidieuses de purification des constituants.

✚ Intérêt de la RMN du carbone-13 :

Le carbone-13 est préféré aux autres noyaux dans le domaine de l'analyse des mélanges complexes car il présente les avantages suivants (**Günther, 1994**) :

- ✓ Le carbone constitue le squelette de toutes les molécules organiques et les différents atomes présents sont, à quelques exceptions près.
- ✓ Les spectres de RMN du carbone-13 peuvent être simplifiés par irradiation totale des noyaux d'hydrogène, ce qui permet de n'observer dans le spectre qu'une seule raie de résonance par carbone (**Williamson et Neuhaus, 1989**).
- ✓ Le domaine de résonance du carbone s'étend sur une plage beaucoup plus vaste que celle du proton (schématiquement, 240 ppm par rapport à 12 ppm), ce qui améliore notablement la résolution effective c'est-à-dire la dispersion spectrale (**Tomi et al., 1995**).
- ✓ L'enregistrement des spectres de RMN ^{13}C est réalisé à température ambiante. Cela évite la dégradation ou la transformation éventuelle des molécules thermosensibles.

- ✓ La RMN étant une technique non destructive, l'échantillon peut être récupéré et soumis à d'autres analyses.

Quelques exemples d'utilisation de la RMN du ^{13}C pour l'identification des constituants de mélanges complexes:

- la RMN du ^{13}C a permis l'identification des principaux composés de l'huile essentielle de *Echinophora sibthorpiana* (**Ahmad et Jassbi, 1999**) et de 12 sesquiterpènes présents dans une fraction chromatographique de l'huile essentielle de bois de *Guarea guidonia* (**Núñez et Roque, 1999**).
- De plus, les énantiomères du camphre et de la fenchone ont été différenciés dans l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* (**Ristorcelli et al., 1998**). L'a-bisabolol et l'épi-a-bisabolol, deux alcools sesquiterpéniques, ont des spectres de masse identiques et des indices de rétention très proches ; seuls leurs spectres de RMN du carbone-13, très différents, permettent leur identification même si l'un seulement des isomères est présent dans l'huile essentielle (**Tomi et Casanova, 2000**).
- Parmi les travaux récents, nous pouvons citer les travaux de **Delort et Jaquier (2009)** sur l'huile essentielle de fruits de *Citrus australasica*. L'analyse par RMN du ^{13}C de chaque fraction obtenue après séparation par chromatographies répétitives a permis l'identification de 195 composés dont 4 nouveaux esters menthaniques.
- De la même manière, nous citerons l'exemple de l'huile essentielle de *Cistus creticus* sp. *eriocephalus* and *Cistus creticus* ssp. *corsicus* qui par analyse par RMN du ^{13}C de fractions obtenues après des étapes de séparations a permis l'identification de 164 constituants qui représentent 83% de l'huile essentielle globale. Le 13-oxo-15,16-bis-nor-ent-labd-8(17)-ène et du 13-oxo-15,16-bis-nor-ent-labd-7(8)-ène ont été identifiés par RMN du ^{13}C et pour la première dans une huile essentielle du genre *Cistus* (**Paolini et al., 2009**).
- La RMN a permis également l'analyse d'autres molécules thermolabiles telles les gingérols dans les extraits au CO_2 supercritique de gingembre (**Mazzoni, 1998**). Enfin, elle a été récemment utilisée pour quantifier l'ascaridole et l'isoascaridole dans l'huile essentielle de *Chenopodium ambrosioides* de Madagascar (**Cavalli, 2004**).

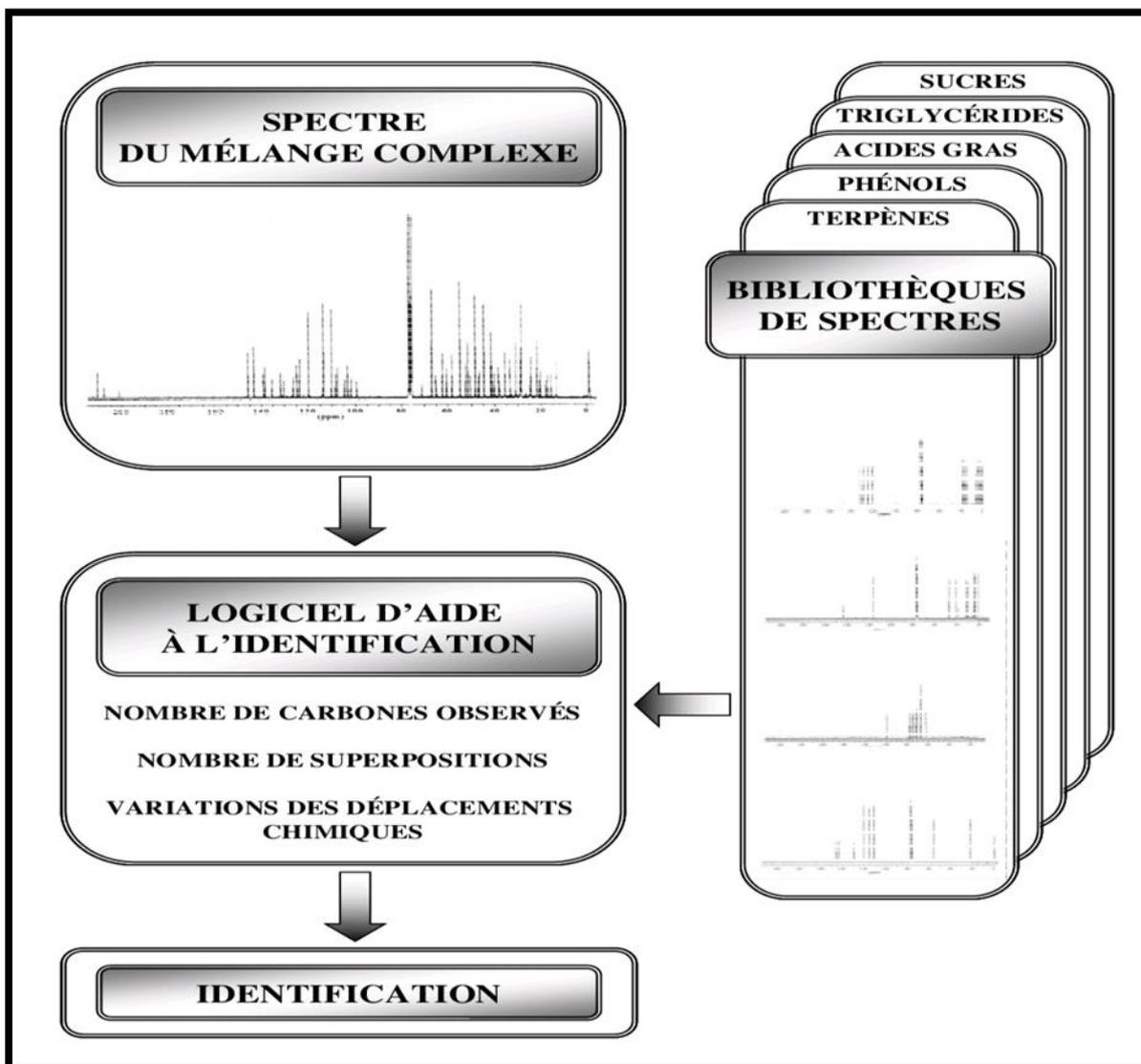


Figure 38: identification des constituants d'un mélange complexe par RMN du carbone-13.

Conclusion

Les huiles essentielles sont des ingrédients aromatiques particuliers, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés antimicrobiennes et anti oxydantes très intéressantes à mettre à profit dans la préservation des produits alimentaires. C'est aussi particulièrement intéressant par leurs propriétés anti-infectieuses et cicatrisantes très significatives en dermatologie. OÙ requiert un large éventail de connaissances scientifiques pour pouvoir en cerner les enjeux industriels en matière de sécurité et de réglementation.

Dans ce contexte, les huiles essentielles sont des ingrédients naturels, efficaces et sûrs lorsque maîtrisés, qui ont le potentiel de répondre à tous les enjeux industriels et sociétaux, dont l'usage cosmétique ne saurait décroître dans les prochaines années.

Les huiles essentielles ont montré une grande efficacité en thérapeutique, dans le cadre d'une médication officinale, mais aussi pour le traitement de pathologies plus lourdes. Au-delà du bénéfice procuré par les huiles essentielles, on peut toutefois se rendre compte qu'au fil des rapports mentionnés, il existait des risques qui, dans certains cas, pouvaient conduire à une issue tragique.

L'extraction des HE des différents organes de la plante (feuilles, fruits, fleurs, graines,...etc.) peut être réalisée au moyen de plusieurs procédés, basés sur des techniques anciennes ou récentes. L'extrait final correspond à une concentration des composés initialement présents dans la matière première. De plus, les méthodes de production tout comme l'origine géographique, le climat, le sol, la période de récolte ou bien encore les pratiques agricoles, peuvent avoir une influence directe sur la composition chimique de l'huile essentielle distillée. Les prochaines années verront raisonnablement augmenter, de façon significative, le nombre de publications relatives à l'utilisation de nouvelles techniques innovantes, fiable et rapides, dans le domaine de l'extraction des substances aromatiques.

Références
Bibliographiques

Abdelhadi, M.; Meullemiestre, A.; Gelicus, A.; Hassani, A.; Rezzoug, S.A. (2015). Chem. Eng. Res. Des. 93, 621–631.

Abid, W., Aounallah, L. (2020). Rendement d'huile essentielle d'une plante médicinale *Artemisia Absinthium* et; étude théorique de leur toxicité sur quelques espèces de moustiques. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessa-Tébessa, Algérie.

Abou Zeid N. H. (2000) - huiles volatiles. Maison arabe de l'édition et de la distribution, Le Caire, 395p.

AFNOR (1980): Association Française de Normalisation, Tour Europe, Cedex 7 - 92080 Paris.

Ahmad VU, Jassbi AR. 1999. Analysis of the essential oil of *Echinophora sibthorpiana* guss. By means of GC, GC/MS and ¹³C-NMR techniques. J. Essent. Oil Res. 11 : 107-108.

Albert K, Dachtler M, Glaser E, Händel H, Lack er T, Schlotterberck G, Strohschein S, Tseng LH, Braumanu U. (1999). On-line coupling of separation techniques to NMR, HRC . J. High Resol. Chromatogr. 22 : 135-143.

A. Marrouf, G. Tremblin, (2009), Abrégé de biochimie appliquée, EDP sciences.

Amor, M. «Les Huiles essentielles », Phyton Pathos 2006.

Andrade Fabio DP, Santos Lourdes C, Dachtler Markus, Albert K, Vilegas W. (2002). Use of on-line liquid chromatography–nuclear magnetic resonance spectroscopy for the rapid investigation of flavonoids from *Sorocea bomplandii*. J. Chromatogr. A, 953 : 287-291.

Ansah Herman, R., Ayepa, E., Shittu, S., SenyoFometu, S., & Wang, J. (2019). Essential Oils and Their Applications -A Mini Review, 1; 2, 1-13.

Arantxa L, (2020); guide à l'usage des huiles essentielles dans l'industrie cosmétique : comprendre les huiles essentielles de la plante au flacon, l'évaluation de leur sécurité et analyse des dispositions réglementaires.

Aribi-Zouiouche, L., Couic-Marinier, F. (2021). Huiles essentielles et chiralité moléculaire *Compte Rendus Chimie. Académie des sciences, Paris and the authors, France.*

Manuel pratique de Chromatographie en phase gazeuse », Masson, Paris

Asma, (2010)- L'expression à froid.

Asma ; (2011)- Méthodes d'extractions, Distillation à l'eau (Hydro distillation).

Athamnia, I., Djaiabet C., Zaghdoudi, G. (2018). Étude de l'activité antifongique des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L.* et du *Thymus capitatus L.* sur des agents d'otomycose Cas d'*Aspergillus Niger*. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie.

Attou, A. (2017). Détermination de la Composition Chimique des Huiles Essentielles de Quatre Plantes Aromatiques de ; Ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent) Etude de Leurs Activités Antioxydants et Antimicrobienne. Thèse de Doctorat. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Algérie.

Bakkali F., Aeverbeck S., Aeverbeck D., et Idaomar M. (2008). Biological effects of essential oil. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, Vol.46: 40 - 42.

Bassereau, M., A. Chaintreau, S. Duperrex, D. Joulain, H. Leijs, G. Loesing, N. Owen, A. Sherlock, C. Schippa, and P.-J. Thorel, (2007) GC-MS Quantification of suspected volatile allergens in fragrances. 2. Data treatment strategies and method performances. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(1): p. 25-31.

Baser K.H.C., Buchbauer G. (2009), Handbook of essential oils : science, technology and applications. CRC Press. 1ère éd. 991p.

Baudoux D., (2000), L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. 1e éd. Biarritz : Atlantica, 223 pages.

Baudoux, D., (2001). Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol. 1, Vol. 1, Éd. Inspir, Luxembourg.

Baudoux, D., Blanchard, J-M, Malotaux, A.F., (2006), Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, Soins palliatifs Edition Inspir.

Baudoux D., Breda M., Zhiri A., (2012), Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. 1e éd. Belgique : J.O.M, 98 pages.

Berka-Zougali, B.; Ferhat, M.A.; Hassani, A.; Chemat, F and Allaf, K.S. Int. J. Mol. Sci. (2012), 13, 4673–4695.

Belhadj, H. (2015). Activité antioxydantes et l'effet hémolytiques des huiles essentielles de *Thymus ciliatus ssp. ciliatus* et d'*Ammoides verticillata*. Mémoire Master en biologie. Département de biologie. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen : 4, 6.

Bekhechi, C.; Atik-Bekkara, F et Abdelouahid , D.E. (2008). Composition et activités antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie- *Phytothérapie* 6 : 153-159.

Bessedik, ML et Khenfer, B. (2015). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* et *Thymus algeriensis* contre quelques champignons phytopathogènes des palmier dattier (*Phoenix dactylifera L*). Mémoire de Master Académiques en Biologie.

Belgharbi, H. (2020). Etude de l'effet inhibiteur de corrosion de l'huile essentielle de Cyprès : Extraction, caractérisation et application. Mémoire de Master en Génie des Procédé. Département de Génie des Procédés. Université 8 Mai 1945 Guelma :17.

Beneteaud, E. (2011), « Les techniques d'extraction », Comité Français du Parfum

Benikhlef, A. (2014). Comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. Mémoire de Master. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen, Algérie.

Benjilali B. (2004) – Extraction des plantes aromatiques et médicinales cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Manuel pratique. Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation. 17-59.

Benouali, D. (2016). Extraction et identification des huiles essentielles. Mémoire de Master en chimie. Département de chimie et physique. Université des sciences et de la technologie d'Oran: 8.

Benmoussaa, H.; Farhat, A.; Romdhane, M.; Bouajila, J. Arab J. Chem. (2016).

Baysal T. et Starmans D.A.J., 1999, Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carvone.

Bentahar, A., Lamri, N. (2018). Extraction des huiles essentielles de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* L et *Teucrium polium* L) et formulation des pommades antimicrobienne. Mémoire de Master. Université A. M. OULHADJ – Bouira, Algérie.

Binet.P. ; Brunel,J.P. Physiologie végétale. 1968, Doin, Paris,774-782.

Blondel, A., (2014). Les huiles essentielles, soins de support en cancérologie.

Bouacha, H. ; Khafrabi, N. et Segiria, D. (2017). Etude de l'activité antifongique des huiles essentielles contre *Candida albicans*. Mémoire de Master en parasitologie. Département de biologie. Université 08 mai 1945de Guelma : 3.

Bouaziz, M., Nasrallah, D. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens* : Métabolites. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Bouchonnet, S., & Libong, D. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse spectrométrie de masse. *Actualite Chimique* ,5ème édition: 7-14.

Bouchonnet, S. (2009) « La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse », Editions Tec & Doc Lavoisier, Paris, p. 194.

Bouguerra, A. (2012). Etude des activités biologiques d'huiles essentielles extraites des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister en sciences alimentaires. Département de biotechnologie alimentaire. Université Mentouri Constantine : 8.

Bousbia, N. (2011). Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse en co- tutelle présentée pour obtenir de garde de docteur en sciences. Université D'Avignon et des pays de Vaucluse & école nationale supérieure agronomique El Harrach –Alger : 26.

Boutamani, M. (2013). Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du *Curcuma longa* et *Myristica fragrans* en fonction du temps et de la technique utilisé.

Mémoire de Master en chimie du médicament. Université des Science et de la technologie Houari Boumediene de Alger : 8.

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

Bradesi P., Bighelli A., Tomi F., (1996) Casanova J., L'analyse des mélanges complexes par RMN du carbone-13 – Partie 2., *Can. J. Appl. Spectrosc.*, 41(2), 41-50.

Brian M,L. (1995): The isolation of aromatic materials from plant products, R,J, Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem (USA), p, 57-148

Brunton,J. (1999) Pharmacogenosie phytochimie plante médicinales, 3^{ème} édition, Tec & Doc et EM inter, 1120.

Bruneton J., (1993). Pharmacognosie. Phytochimie, plantes médicinales. Tec. & Doc. Lavoisier, 2ème édition, Paris. 915p.

Bruneton J., (2009), Pharmacognosie : Phytochimie : Plantes médicinales. 4e éd. Paris : Tec & Doc, 1269 pages.

Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Lavoisier, 2ème Ed., Paris. 623p. (Techniques et Documentation).

Bruneton J., (1999).- Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC ET DOC, Paris

Buckle J. (2015).Clinical Aromatherapy. Essential oils in Health care.Chap. 7 Infection. 3eEdElsevierInc., pp130-16.

Burt S. (2004) Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in food –a review. *International journal of food microbiology*, 94 : 223-253.

Buvat, Cécile. (2017). Conseils en aromathérapie à l'officine: création de fiches conseils pratiques à destination de l'équipe officinale. Thèse de Doctorat. Université Grenoble Alpes France.

Cavalli J.F., (2004). Combined analysis of the essential Oil of *Chenopodium ambrosioides* by GC, GC-MS and ¹³C-NMR Spectroscopy : quantitative determination of Ascaridole, a heat-sensitive compound, *Phytochem. Anal.*, 15, 275-279.

Chamblee T.S., Karelitz R.L., Radford T., Clark B.C., Identification of sesquiterpenes in Citrus essential oils by cryofocusing GC/FT-IR, *J. Essent. Oil Res.* , 1997, 9, 127-132.

Charik, S., Kadri, Y. (2020). Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis*. Mémoire de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf-M'sila, Algérie.

Charles, Pierron. (2014). Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie- gérontologie et soins palliatifs. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France, vol 1- 253.

Chemat F., TOMAO V. et VIROT M., (2008) : Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In *Handbook of Food Analysis Instruments* by Semih Ötles (pp. 85 – 103). Boca Raton, Florida, USA : CRC Press.

Chikhoune, A. (2020). Huiles essentielles de thym et d'origan. Etude de la composition chimique de l'activité antioxydante et antimicrobienne. Mémoire de Magister en agronomie. Département des sciences alimentaires. Institut national agronomique el Harrach d'Alger : 15.

Coleman II W.M., Gordon B.M., Lawrence B.M., Examinations of the matrix isolation fourier transform infrared spectra of organic compounds: part XII, *Applied Spectroscopy*, 1989, 43(2), 298-304.

Constantin, E. «Spectrométrie de masse», Lavoisier Tec & Doc, Paris 1996, 1-14.

Couecou B., LAPIERRE L. (2001) : Transformation des fruits exotiques en jus : description des process et optimisation des qualités. Conférence Cirad-flhor. Conservation et transformation des fruits : nouveaux enjeux, nouvelles techniques. France.

Cremin P, Donnelly DMX, Wolfender JL, Hostettmann K. (1995). Liquid Chromatographic- Thermospray Mass Spectrometric Analysis of Sesquiterpenes of *Armillaria* (Eumycota : Basidiomycotina) species. *J Chromatogr A*, 710 : 273-285.

C. Viollon, J.P. Chaumont, Antifungal properties of essential oils and their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologia* 128, 151-153, 1994.

Degryse A., Delpla I., Voinier M. (2008) : Risque et bénéfices possibles des huiles essentielles. Ingénieure du Génie Sanitaire, atelier santé environnement.

Delort E, Jacquier A. (2009). Novel terpenyl esters from Australian finger lime (*Citrus australasica*) peel extract. *Flavour Fragr. J.* 24 : 3, 123-132.

Deschepper, R. (2017). Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de Doctorat. Université d'Aix-Marseille, France.

D. Grigonis, P.R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl and C.S. Eskilsson, (2005) Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*), *The Journal of Supercritical Fluids*, 33 (3) 223-233.

Dipage J. A. (2009): Huiles essentielles : Obtention et rendement.

Djabou, N. (2012). Caractérisation et variabilité de plante à parfum aromatique et médicinale de corse et de l'ouest algérien. Thèse Doctorat en chimie .Département de chimie. Université de Corse-Pascal Paoli de France : 26.

Djaalali, S., Bayoud, H. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens* : Morphométrie. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi- Tébessa, Algérie.

Djazer, H. (2014). Extraction et analyse physico-chimique et effet antimicrobien des huiles essentielles et de l'extrait méthanolique du Romarin « *Rosmarinus officinalis.L* » de deux régions Blida et Djelfa. Mémoire de Master. Université Blida 1, Algérie.

Djebri, A., Douib, B. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia campestris* à l'égard de *Culex pipiens* : Aspect toxicologique. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Djilani, A.,&Dicko, A. (2012). *The Therapeutic Benefits of Essential Oils*, p -, 156-178.

Dugo G., Di Giacomo A. (2002) *Citrus, the genus Citrus*. Taylor & Francis. 565p.

Dugo P, Mondello L, Dugo L, Stancanelli R, Dugo G. (2000). LC-MS for the identification of oxygen heterocyclic compounds in citrus essential oils. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 24: 147-154.

Duval L. (2012). Les huiles essentielles à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Université de Rouen.

El Ajjouri, M., Satrani, B., Ghanmi, M., Aafi, A., Farah, A., Rahouti, M., ... & Aberchane, M. (2008). Activité antifongique des huiles essentielles de *Thymus bleicherianus* Pomel et *Thymus capitatus* (L). Hoffm. & Link contre les champignons de pourriture du bois d'œuvre. *BASE (Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement)* ,12(4) : 345-351.

Englebin M. (2011) : Essences et huiles essentielles : précaution d'emplois et conseils d'utilisation. Centre de formation en aromathérapie.

Fabre, Nicolas. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat. Université Paul Sabatier Toulouse III, France, vol 1-213.

Fadel, I. ; Tacherounte, S. (2017). Evaluation de quelque activité biologiques de l'huile essentielle de l'espèce *Aloyia triplylla* et son effet sur trois bactéries. Mémoire d'ingénieur en agroalimentaire. Département d'agroalimentaire. Université Frères Mentouri Constantine : 16.

Farhat, A. (2010). Vapo-diffusion assistée par micro-ondes: conception, optimisation et application. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Sciences des Procédés, Sciences des Aliments), Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (France) & Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès (Tunisie).

Fernandez X., Chemat F. (2012) La chimie des huiles essentielles. Editions Vuibert 288p.

Filly A., Fernandez X., Minutti M., Visinoni F., Cravotto G. (2014) Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs- From laboratory to pilot and industrial scale. *Food chemistry*, 150 : 193-198.

Filly, A.; Fabiano-Tixier, A.S.; Louis, C.; Fernandez, X.; Chemat, F. C. R. Chimie (2016), 1–11.

Florence, Mayer. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite. Thèse de Doctorat. . Université de Lorraine, France, vol 1-87.

F.MAYER ; Utilisation thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en maison de retraite, thèse doctorat ,Université de LORRAINE,1985.

Formáček V., Kubeczka K.H., Essential oils analysis by capillary gas chromatography and carbon-13 NMR spectroscopy, Ed. John Wiley & Sons, Chichester, 1982.

Fouche J.G Marquer A et Hambuckers, (2000) les plantes au médicament,observatoire des plantes Sart-Tilman.

Franchomme P., Penoël D. (2001). Dans le langage courant, on parle d'effets positifs capteurs d'électrons,

Franchomme P, Pénéol D, Jollois R. (2001) L'aromathérapie exactement : encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. Jollois; 490 p.

Franchomme P., Jollois R., Penoel D., (2007), L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des extraits aromatiques. 1e éd. Paris : Roger Jollois, 490 pages.

Franchomme P. (2015) La science des huiles essentielles médicinales. Guy Trédaniel; p.580

Ganzler K, Salgo A, Valko K. 1986. A novel sample preparation method for chromatography, J. Chromatogr. A, 371 : 299-306.

Garneau F.X. (2005) Huiles essentielles : de la plante à la commercialisation - Manuel pratique. Corporation Laseve, Université du Québec à Chicoutimi 185p.

Gavahian M., Farahnaky A., Javidnia K., Majzoubi M. (2012) Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Innovative food science and emerging technologies, 14 : 85-91.

Golmakani M.T., Rezaei K. (2008) Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food chemistry, 109 : 925–930.

Grenier-Loustalot MF, Grenier P, Bounoure J, Grall M, Panaras R. 1990. Couplage direct chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) et résonance magnétique nucléaire du proton (RMN 1 H). Appareillage, méthodologie, exemple d'application. *Analisis*, 18 : 200-207.

Grid, S ET Methanni, N. (2016). Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques et l'activité antifongique des huiles essentielles de quelques plantes aromatiques et médicinales. Mémoire Master Académique en Biologie. Département des Sciences de l'Environnement et des Sciences Agronomiques. Université Med-Sedd.ik Benyahia de Jijel : 16.

Grob, R., & Barry E. (2004) Modern Practice of Gas Chromatography. 4th ed. New York: John Wiley.

Guenez, N., Bakhouch, R. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens* : Morphométrie. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Guerrouf, A. (2017). Application des huiles essentielles dans la lutte microbiologique cas d'un cabinet dentaire. Mémoire Master Académique. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Algérie.

Gulaçar F.O., Winkler F.J., Mermoud F., Bushs A., Ammoniac chemical ionization mass spectrometry of alcohols; structural, stereochemical, molecular- size and temperature effects, *Helv. Chim. Acta*, 1984, 67, 488-501.

Günther H., La spectroscopie de RMN. Principes de base, concepts et applications de la spectroscopie de résonance magnétique nucléaire du proton et du carbone-13 en chimie, Masson, Paris, 1994.

György, É., Laslo, É., Kuzman, I. H., & Dezsó András, C. (2020). The effect of essential oils and their combinations on bacteria from the surface of fresh vegetables. *Food Science & Nutrition*, 8(10) : 5601-5611.

Hafdallah, L., Khalfi, F. (2020). Étude Bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens* : Aspect toxicologique. Mémoire de Magister. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Hartonen, K. (1993). Comparaison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants. 1. Chrom., 634, 297-308.

Hattou, M. (2016). Effets de l'incorporation des huiles essentielles extraites du thym et de l'origan sur la productivité, les qualités nutritionnelles et physicochimique du poivron. Mémoire Master en Agronomie. Département d'Agronomie. Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem : 17.

Hawthorn E, S.B.; Rlekkola, M.L.; Serenius, K. Holm, Y.; Hiltunen, R. and

Hedges L.M., Wilkins C.L., Components analysis of eucalyptus oil by Gas Chromatography-Fourier Transform-Infrared Spectrometry-Mass Spectrometry, J. Chromatogr. Sci., 1991, 29, 345-350.

Hellal, Z. (2010). Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des *Citrus*. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*). Mémoire de Magister en biologie. Département des sciences biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : 4.

Hellal, Z. (2011) Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Applications sur la sardine (*Sardina pilchardus*), Mémoire de Magister. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Hernandez Ochoa, L. R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine (solvant/actif) d'origine végétale. Thèse de Doctorat en Science des Procédés (option Sciences des Agroressources), Institut National Polytechnique, Toulouse, France.

Houël, E. (2011). Etude des substances bioactives issues de la flore amazonienne. Analyse de préparations phytothérapeutiques à base de *Quassia amara L. (Simaroubaceae)* et *Psidium acutangulum D.C. (Myrtaceae)* utilisées en Guyane Française pour une indication antipaludique. Identification et analyse métabolique d'huiles essentielles à activité antifongique. Thèse de doctorat en chimie des substances. Université des Antilles et de la Guyane : 220 p.

Iob A., Buenafe R., Abbas N.M., Determination of oxygenates in gasoline by FTIR, Fuel, 1998, 77(15), 1861-1864.

Jouault, S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France.

Karahacane, T. (2015). Activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes du blé en post récolte. Thèse doctorat en science agronomique. Département Zoologie Agricole et Forestière. Ecole nationale supérieures agronomiques : 91p.

Kar, S., Gupta, P., & Gupta, J. (2018). Essential Oils: Biological Activity Beyond Aromatherapy, 139; 140, 139-147.

Kerbouche, L. (2010). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de Labiacées et de Cupressacées. Mémoire de Magister. Ecole Nationale Supérieure Agronomique-El-Harrach-Alger, Algérie.

Kerbouche, L. (2017). Composition chimique et activité biologique des huiles essentielles de quelques plantes des familles de *Labiacees* et de *Curpressacees*. Thèse de magister en sciences agronomiques, option : sciences alimentaires. Département de technologie alimentaire. Ecole supérieure agronomique –El-Harrach, Alger : 13.

Keville K. et Green M., 1995, Aromatherapy: A complete guide to healing art, Ed 1: The Crossing Press; p: 120-140.

K. Dastmalchi, H.J. Damien Dorman, P.P. Oinonen, Y. Darwis, I. Laakso and R. Hiltunen, (2008) Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract LWT, 41391 – 400.

Kim.N.S, D.S. Lee. J. Chrom. A. (2002), 982, 31.

KINGSTON M.M. et HASWELL S.J., 1997 : Microwave – Enhanced Chemistry, Fundamentals, Sample Preparation, and applications. Edition American Chemistry Society, Washington, DC, 772 p.

KING J.W., (2004): Critical fluid technology for the processing of lipid-related natural products. Comptes Rendus Chimie, Vol. 7, pp : 647 – 659.

Kubeczka K.H., Schultze W., Formáček V., Herres W., New developments in essential oils analysis by Fourier-Transform spectroscopy, 10th International Congress of Essential

Oils, Fragrances and Flavours, Washington, 16-20 Nov., 1986, Proceedings, Ed. Elsevier Science, 1988, 931-950.

Kumar A., Shukla R., Singh P., Prasad C.S., Dubey N.K. (2008) Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9: 575–580.

Korhammer S.A., Bernreuther A., Hyphenation of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Other Chromatographic Techniques (SFC, GPC, GC, CE) with Nuclear Magnetic Resonance (NMR): A review, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1996, 354, 131-135.

Kosar M., Ozek T., Kurkcuoglu M., Baser K.H.C. (2007) Comparison of Microwave-Assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the fruit essential oils on *Foeniculum vulgare*. *Journal of essential oil research*, 19 : 426-429.

Koto R. et al. (2006). Linalyl acetate as a major ingredient of lavender essential oil relaxes the rabbit vascular smooth muscle through dephosphorylation of myosin light chain. *J. Cardiolovasc. Pharmacol.* 48(1), 850-6.

Kozioł, N. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora*: qualité, efficacité et toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France.

Labioud, R. (2016). Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba, Algérie.

Laforet J. (2012) Connaissance du profil chromatographique d'huiles essentielles pour un meilleur conseil à l'officine : Relation structure / activité – toxicité. Thèse pour le diplôme de docteur en Pharmacie. Aix-Marseille université.

Lagunez-Rivera L. (2006) - Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.

Lahlou, M. (2004). Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), 435-448.

Lahreche, k. (2010). Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* et de *Saccocalyx satureioide*. Test d'activités antibactériennes et antifongiques. Mémoire de Magister en chimie moléculaire. Département de chimie. Université d'Oran Es- sénia : 2.

Lakhdar, L. (2015). Évaluation de l'activité antibactérienne ;huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Thèse de Doctorat. Faculté de Médecine dentaire de Rabat, Maroc.

Lamamra, M. (2018) Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula (L.) Parl.* et de *Filipendula hexapetala Gibb.* Mémoire de Magister. Université Ferhat Abbas-Setif, Algérie.

Lardry J.M. et Haberkorn V., (2007), Les Huiles Essentielles : principes d'utilisation, *Kinesitherapy Reviews* 61, p: 18-23.

Latrasse A., Sémon E, Le Quéré J.L., Composition and major odorous compounds of the essential oil of *Bifora radians*, analdehyde-producing weed, *J. High Resol. Chromatogr.*,1991,14,549-553.

Latreche, W., Mansor, N. (2021). Les huiles essentielles, activités biologique d'une plante aromatique. Mémoire de Master Académique. Université Mohamed Boudiaf-M'sila, Algérie.

Laurent, J. (2017). Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de Doctorat. Université Paul Sabatier Toulouse III, France.

León-Méndez, G., Pájaro-Castro, N., Pájaro-Castro, E., Torrenegra- Alarcón, M., & Herrera-Barros, A. (2018).Essential oils as a source of bioactive molecules, 81, 80-93.

Leszczynska, D. (2007). Management de l'innovation dans l'industrie aromatique: Cas des PME de la région de Grasse. Editions l'Harmattan, Paris, France.

Li, X.J.; Wang, W.; Luo, M.; Li, C.Y.; Zu, Y.G.; Mu, P.S.; Fu, Y.J. *Food Chem.* 2012, 133, 437–444.

Lis-Balchin M. (2006) Aromatherapy science : a guide for healthcare professionals. Pharmaceutical Press. 462 p.

LOBSTEIN, A. ; FREY, M.L. et ANTON, R. (1983). Altérations et conservation des huiles essentielles, Ann. Pharm. Franç. 41 (1),69-75.

Longevialle P., Spectrométrie de masse des substances organiques, Masson, Paris, 1981.

Lucchesi, M. E. (2005). Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, France.

Lucchesi, M.E., F. Chemat, and J. Smadja, (2004) Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. Journal of Chromatography A. 1043(2): p. 323-327.

Lucchesi ME, Samdja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: a multivariate study of a new chemotype for the extraction of essential oil. J. Food Eng. 79 : 1079-1086.

Maack F et Sablier M., 1997. Couplages chromatographiques avec la spectrométrie de masse. P 2614, Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation.

Mandal, S.C.; Mandal, V.; Das, K.A. (2015) « Essentials of Botanical Extraction: Principles and Applications », Elsevier, USA, p. 206.

Marinier F.C., (2009), Huiles essentielles : l'essentiel (Conseils pratiques en aromathérapie pour toutes la famille au quotidien, autoédition.

Masada Y., Analysis of essential oils by gas chromatography and mass spectrometry, Ed. John Wiley & Sons, New-York, 1976.

Mason T.J. et Cintas P., (2002): Sonochemistry, Chapitre 16, pp : 372 - 396 In CLARK J. et MACQUARRIE D: Handbook of Green Chemistry and Technology. Editon Blackwell Science Ltd. 540 p.

Mayer, F. (2012). Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles: étude de cas en maison de retraite. Thèse de Doctorat. . Université de Lorraine, France.

Mazzoni V., Analyse de mélanges naturels par RMN du carbon-13 : extraits lipidiques, miels et huiles essentielles, Thèse de doctorat, Université de Corse, France, 1998.

McLafferty F.W., Michnowicz J.A., State-of-the-art GC-MS, Chemtech., 1992, 182-189.

Mecheri, R., Hammouchène, S. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle de Rosmarinus officinalis à l'égard de Culex pipiens : Morphométrie. Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Mehani. M. (2015) Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'Eucalyptus camendulensis dans la région d'Ouargla, thèse doctorat. Université de KASDI Merbah, Ouargla.

Menasri, I., Kais, M. (2021). Les Huiles Essentielles et les Infections Microbiennes. Mémoire de Master. Université Larbi Ben Mhidi- Oum El Bouaghi, Algérie.

Meullemiestre, A.; Petitcolas, E.; Maache-Rezzoug, Z.; Ginies, C.; Chemat, F.; Rezzoug, S.A. Wood. Mater. Sci. Eng. (2014), 9(2), 76–83.

Miloud, S. (2010). Analyse physico-chimique, chromatographique et spectroscopique de l'huile essentielle d'Ammoides Verticillata de la région d'Adrar. Étude de son activité biologique et anti-oxydante. Mémoire de Magister. Université d'Oran Es-Senia, Algérie.

Moro Buronzo A., (2008), Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed: Hachette Pratique, p: 14- 43.

Moestra P. & H. Grisebach, 1982. -L-2-aminooxy-3-phenylpropionic acid inhibits phytoalexin accumulation in soybean with concomitant loss of resistant against Phytophthora megasperma f. sp glycinea. Physiol. Plant Pathol., 21, 65-70.

Mohammadhosseini, M.; Mahdavi, B.; Shahnama, M. J. Essent. Oil Bear. Pl. (2015), 18(6), 1321–1328.

Mohammed Chenni, (2016); Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic "Ocimum basilicum L." extraite par hydro distillation et par micro-ondes.p: 40-41.

Möller K., (2008): La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Editorial UNICO. 152 P.

Mondello L, Dugo P, Bartle KD. 1995. Automated HPLC-HRGC: A Powerful Method for Essential Oil Analysis. Part V. Identification of Terpenes Hydrocarbons of Bergamot, Lemon, Mandarin, Sweet Orange, Bitter Orange, Grapefruit, Clementine and Mexican Lime Oils by Coupled HPLC-HRGC-MS (ITD). *Flavour Fragr. J.* 10 : 33-42.

Moro Buronzo A., (2008), Le Grand Guide des Huiles Essentielles: Santé, Beauté, Bien être; Ed: Hachette Pratique, p: 14- 43.

Moulin J.-P., Pareau D., RAKIB M. et Stambouli M., (2002): Transfert de matière. Extraction liquide – liquide. *Techniques de l'ingénieur J1073*, pp : 1 – 13.

Mroczek T, Ndjoko K, Glowniak K, Hostettmann K. (2004). On-line structure characterization of pyrrolizidine alkaloids in *Onosma stellulatum* and *Emilia coccinea* by liquid chromatography–ion-trap mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1056 : 91-97.

Mueller M.S., Runyambo N., Wagner I., Borrmann S., Dietz K., Heide L., (2004): Randomized controlled trial of a traditional preparation of *Artemisia annua* L. (Annual Wormwood) in the treatment of malaria. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98,318-321.

Munari F., Dugo G., Cotroneo A., Automated On-line HPLC-HRGC with Gradient Elution and Multiple GC Transfer Applied to the Characterization of Citrus Essential Oils, *J. High Resol. Chromatogr.*, 1990, 13, 56-61.

Muselli A, Bradesi P, Blanc MC, Casanova J (2004) Chemical composition and variability of the essential oil of *Inula graveolens* from Corsica. *FlavourFragr. J.* 19:314-319, 2004.

Nabil Bousbia. (2011); Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. p :68.

Naouel OUIS, (2015): Etude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil.p : 46.

Nathalie, Koziol. (2015). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbia citriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France, vol 1-107.

Nguemtchouimbouga, (2012)- Extraction par solvant.

Nguemtchouinbouga, (2012) et Afssaps, (2008)- Méthodes d'extraction des huiles.

Nguemtchouinbouga, (2012)- Conservation des huiles essentielles.

Nicoletti M., Toniolo C. (2012) HPTLC fingerprint: a modern approach for the analytical determination of botanicals. *Brazilian Journal of Pharmacology*, 21(5) :818-823.

Nishii, Y., T. Yoshida, and Y. Tanabe, 1997. Enantiomeric resolution of a germacrene-D derivative by chiral high-performance liquid chromatography. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 61: 547–548.

Novak P, Tepeš P, Fistrić I, Bratoš I, Gabelica V. (2006). The application of LC-NMR and LC- MS for separation and rapid structure elucidation of an unknown impurity in 5-aminosalicylic acid. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40 : 1268-1272.

Núñez CV, Roque NF. (1999). Sesquiterpenes from the stem bark of *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae). *J. Essent. Oil Res.* 11 : 439-440.

Odoul, M. (2003). Les huiles essentielles. La lettre de l'institut français de shiatsu, N°.2 :1-12

Ouis, N. (2015). Étude chimique et biologique des huiles essentielles de Coriandre, de Fenouil et de Persil. Thèse de Doctorat. Université d'Oran 1, Algérie.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M. (2007). Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*". *Food Control*, 18 : 414- 420.

Pacchioni I, (2014), Aromatherapia : Tout sur les huiles essentielles. Paris : Aroma Thera, 351pages.

Paolini J, Falchi A, Quilichini Y, Desjobert J-M, De Cian M-C, Varesi L, Costa J. (2009). Morphological, chemical and genetic differentiation of two subspecies of *Cistus creticus* L. (*C. creticus* subsp. *eriocephalus* and *C. creticus* subsp. *corsicus*). *Phytochem.* 70 : 1146-1160.

Paré JRJ, Sigouin M, Lapointe J. 1990. Extraction de produits naturels assistée par micro-ondes. Brevet européen, EP 398798.

Park, Y.L.; Tak, J.H. (2016) « Essential Oils for Arthropod Pest Management in Agricultural Production Systems », In Preedy, V.R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier Science & Technology Books, USA, pp. 61–70.

PELLERIN P., 1991: Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry. *Perfum. Flav.*, Vol. 16, pp : 37 – 39.

PELLERIN P., (2001): Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. *Ann. Fals. Exp. Chim.* V. 94, N°954 – pp : 51-62.

PERRUT M., 1999 : Extraction par fluide supercritique. *Les techniques de l'ingénieur*. J 2 770.

Pharmacopée Européenne. (2007). Direction de la Qualité du Médicament & Soins de Santé du Conseil de l'Europe (DEQM), Strasbourg, France.

Pierron C., (2014), Les huiles essentielles et leurs expérimentations dans les services hospitaliers de France : exemples d'applications en gériatrie-gérontologie et soins palliatifs, Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lorraine.

Piochon M. (2008) Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire pour la maîtrise en ressources renouvelables. Université du Québec à Chicoutimi.

PURCHON, N., (2001) La bible de l'aromathérapie Edition Marabout.

Pusecker K, Albert K, Bayer E. 1999. Investigation of hop and beer bitter acids by coupling of highperformance liquid chromatography to nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Chromatogr. A*, 836 : 245–252.

Qi, X.L.; Li, T.T.; Wei, Z.F.; Guo, N.; Luo, M.; Wang, W.; Zu, Y.G.; Fu, Y.J.; Peng, X. Ind. Crops Prod. (2014), 58, 322–328.

Raaman, N. (2006). *Phytochemical techniques*. New India Publishing, New Delhi, Inde.

Reighard T. S., and S. V. Olesik, (2006) Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches of the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 26, 1-39.

Reverchon E, De Marco I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural Matter. *J. of Supercritical Fluids*, 38 : 146-166.

Rheum, (2009)- Chromatographie sur Couche Mince (CCM).

Richard, H. (1992). Epices et aromates .Ed. Lavoisier, paris. : (Technique & Documentation) : 339 p.

RICHARDSON J.A., 1999. Potpourri hazards in cats — Toxicology Brief December.

Richter, J., & Schellenberg, I. (2007). Comparison of different extraction methods for the determination of essential oils and related compounds from aromatic plants and optimization of solid-phase microextraction/gas chromatography. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 387(6), 2207-2217.

Ristorcelli D., Tomi F., Casanova J., 13C-NMR as a tool for identification and enantiomeric differentiation of major terpenes exemplified by the essential oil of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas*, *Flavour Fragr. J.*, 1998, 13, 154-158.

Robin Deschepper, (2017): Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie. Thèse de doctorat en pharmacie. Département de pharmacie. Université de Marseille : 19. p : 55-56.

ROUX D. (2008) Conseil en aromathérapie - 2e édition. Pro-Officina.

Roux D, (2004) Botanique pharmaceutique phytothérapie, 2ème Edition Lavoisier, Paris.

Roux D., (2011), Conseil en aromathérapie. 2e éd. Pays-Bas : Pro-Officina, 187 pages.

Roux R. (2008) : conseil en aromathérapie. 2^{ème} Edition, pro-officia., p. 187. Their main components upon *Cryptococcus neoformans*. *Mycopathologie*. 128: p. 151-153.

Rullière M., Porraz A. (2015) Conseils en aromathérapie à l'officine : création d'un site internet destiné aux pharmaciens d'officine [Thèse de doctorat en pharmacie]. Grenoble, p.160.

Sadgrove, N.J., Padilla-González, G.F., & Phumthum, M. (2022). Fundamental Chemistry of Essential Oils and Volatile Organic Compounds, Methods of Analysis and Authentication, 1, 1-34.

Saiyudthong S. et al. (2011) Acute effects of bergamot oil on anxiety-related behaviour and cortisone level in rats. *Phytother. Res.* 25(6) ; 858-62.

Saller R., BERGER T., REICHLING J., 1998. Pharmaceutical and Medicinal Aspects of Australian Tea Tree Oil ~ *Phytomedicine* , v01 5(6), 489-495.

Salomé-Abarca, L.F.; Soto-Hernández, R.M.; Cruz-Huerta, N. and González-Hernández, V.A. *Bot. Sci.* 2015, 9(3), 633–638.

Sasaki T.A., Wilkins C.L., Gas chromatography with fourier transform infrared and mass spectral detection, *J. Chromatogr. A*, 1999, 842, 341-349.

Schafer W., 1994. - Molecular mechanisms of fungal pathogenicity to plants. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 32, 461-477.

Seu-Saberno, M.; Blakeway, J. « La mouse de chêne, une base de la parfumerie », Pour la science, Edition Française de Scientific American, 1984, Mai, 83.

Shen T. et al. (2012). The genus *Commiphora*: a review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J. Ethnopharmacol.* 142 (2): 319 30.

Sirovopoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C, Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M. Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *Food Chemistry.* 1996, 44, 1202,1205.

Skaria B.P. et al., (2007), *Aromatic Plants*, Ed: New India Publishing Agency, p: 37-43.

Smith D.A., J.M. Harrer & T.E. Cleveland, 1982. - Relation between production of kievitone hydratase by isolates of *Fusarium* and their pathogenicity on *Phaseolus vulgaris*. *Phytopathology*, 19, 1673-1675.

Solène, Jouault. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine, France, vol 1-137.

Souane, K., Kechroud,S. (2020). Étude bibliographique de l'effet larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens* : Aspect toxicologique. Mémoire de Magister. Université Larbi Tébessi-Tébessa, Algérie.

Souilah, N. (2018). Étude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques Traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques Espèces du Nord-est algérien. Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri Constantine 1, Algérie.

Sylvain SUTOUR. (2010), Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats, p 13.

Sztejnberg A., H. Azaiza & N. Lisker, 1989. - Effect of tannins and phenolic extracts from plant roots on the production of cellulase and polygalacturonase by *Dermatophora necatrix*. *Phytoparasitica*, 17, 49-53.

Taleb Toudert, k. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de kabylie (Nord algérien). Evaluation de leur effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus*(*Coleoptera : Bruchidae*). Thèse de doctorat en sciences biologiques. Département de biologie animale et végétale. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou : 8.

Tal B. & D.J. Robeson, 1986.- The metabolism of sunflower phytoalexins ayapin and scopoletin. *Plant-fungus interactions. Plant Physiol.*, 82, 167-172.

Tanu, B., & Harpreet, K. (2016). Benefits of essential oil, 143, 143-149.

Teissedre, P.L.; Waterhouse, A. L. J. Agric. Food Chem. (2000), 48, 3801-3805;

Teuscher E. et al. (2005). Plantes aromatiques. Ed. Tec & Doc, pp1-519.

Tigrine-Kordjani, N.; Meklati, B.Y.; Chemat, F. Food Anal. Method. (2012), 5, 596–603. Thomaidis N.S., Georgiou C.A., Edible oil analysis by flow injection, *Lab. Autom. Inf. Manag.*, 1999, 34(2), 101-114.

Tomi F., Bradesi P., Bighelli A., Casanova J., Computer-aided identification of individual components of essential oils using carbon-13 NMR spectroscopy, *J. Magn. Reson. Anal.*, 1995, 1, 25-34.

Tomi F, Casanova J., (2000) Contribution de la RMN du carbone-13 à l'analyse des huiles essentielles, *Annales Fals. Expertise Chim*, 93, 313-330.

Torre GL, Saitta M, Vilasi F, Pellicanò T, Dugo G. (2006). Direct determination of phenolic compounds in Sicilian wines by liquid chromatography with PDA and MS detection, *Food Chem.* 94 : 640-650.

Toure, Daouda. (2015). Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de Côte d'Ivoire. Thèse de Doctorat. Université Félix Houphouët- BOIGNY, Côte d'Ivoire.

Touati, I., Mahmoudi, Z. (2017) Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Mentha piperita* et de *Thymus numidicus* sur la croissance de l'oïdium sur les cultures maraichères. Mémoire de Master. Université de Boumerdes-Algérie.

UDAYA-SANKAR, K. (1989). Studies of Physicochemical Characteristics of volatile oil from pepper (*pepper nigrum*) extracted by supercritical carbon dioxide., *J. Sei. Food., Agric.*, 48,483- 493.

Uhlmann A. & J. Ebel, 1993. - Molecular cloning and expression of 4-coumarate : coenzyme A ligase, an enzyme involved in the resistance response of soybean (*Glycine max L.*) against pathogen attack. *Plant Physiol.*, 102, 1147-1156.

Ulrich B. (2010) « Le bon usage de l'aromathérapie ». *CaliInfos*; 39 : 36-37.

Uysal, B.; Sozmen, F.; Aktas, O.; Oksal, B.S.; Kose, E.O. *Int. J. Food Sci. Tech.* (2011), 46, 1455–1461.

Van Etten H.D., P.S. Matthews & E.H. Mercer, 1989.-Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Ann. Rev. Phytopath.*, 27, 143-167.

Velé H., (2015), Thèse pour le diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, Valorisation officinale des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments, Université Angers.

Victoria M, Elipe S. (2003). Avantages and disadvantages of nuclear magnetic resonance spectroscopy as a hyphenated technique. *Analytica Chimica Acta*, 497 : 1-25.

Vinatoru M., (2001): An overview of ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol. 8, pp : 303-313.

Waridel P, Wolfender J-L, Lachavanne J-B, Hostettmann K. (2004). Identification of the polar constituents of *Potamogeton* species by HPLC-UV with post-column derivatization, HPLC- MSn and HPLC-NMR, and isolation of a new ent-labdane glycoside. *Phytochem.* 65 : 2401- 2410.

Wilson, C.L.; Solar, J. L.; El Ghouth, A.; Wisniewski, M.E. *Plant Disease* 1997, 81, 2, 204-210.

WILLEM, J.P. (2002) Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV.

WILLEM, J.P. (2002) Le guide des huiles essentielles pour vaincre vos problèmes de santé Editions LMV.

WIJESEKARA R.O.B., RATNATUN GA C.M., DURBECK K., 1997 : The distillation of essential oils. *Manufacturing and plant Construction Handbook.* Eschborn, Federal Republic of Germany, Protrade, Department of foodstuffs & Agricultural Products.

Williamson M., Neuhaus D., *The Nuclear Overhauser Effect in Structural and Conformational Analysis,* VCH, New York, 1989.

Wilkins C.L., Multidimensional GC for qualitative IR and MS of mixtures, *Anal. Chem.*, 1994, 66, 295-301.

Winkler F.J., Gulaçar F.O., Mermoud F., Bushs A., Temperature dependence of the isobutane chemical ionization of open-chain and cyclic alcohols; structural, stereochemical and molecular-size effects. A reevaluation of the chemical ionization of alcohols, *Helv. Chim. Acta*, 1983, 66, 929-941.

Wolfender JL, Ndjoko K, Hostettmann K. 1998. LC/NMR in natural products chemistry. *Current Organic Chemistry.* 2 : 575-596.

Zambonelli, A.; Zechini, A.; D'aulerio, A.; Bianchi, A.; Albasni, A. J. *Phytopathology* 1996,144,491-494;

Zellner, B.A.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L. (2016) « Analysis of Essential Oils », In Baser, K.H.C.; Buchbauer, G. (Eds.), Handbook of Essential Oils: Science, Technology and Applications, Taylor & Francis Group, CRC Press: Boca Raton, FL, USA, pp. 195–228.

Zhiri. A. (2001) Les huiles essentielles, un pouvoir antimicrobien avéré. *Nutranews ; Science, Nutrition. Prévention et santé.*

Zygodlo, J. A.; Antifungal Properties of the Leaf Oils of *Tagetes minuta* L. and *T. Filifolia* Lag. *J. Essent. Oil Res.*, 6,617-621 (Nov/Dec 1994).