

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSIEGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB, BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

LABORATOIRE DE CHIMIE DES SUBSTANCES NATURELS ET
BIOMOLECULES



Mémoire présenté par

Feroukhi Iméne

Rabah Fatima Zahra

En vue d'obtenir le diplôme de Master

Domaine : Science de la matière

Filière : Chimie

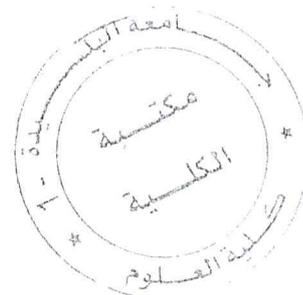
Option : Chimie des produits Naturels

Thème

Analyse qualitative et quantitative des huiles essentielles commerciales et
authentiques

O.Touafek	Dr	Président	Université Blida1
R.Zahi	Dr	Membre	Université Blida1
N.Bouzidi	Dr	Promotrice	Université Blida1
G.Ziane	Dr	Co-Promotrice	Université Blida1

Promotion 2017-2018



MA-540-166-1

Remerciement

Avant tout nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donnés le courage, la volonté, la patience et la santé durant toutes ces années et que grâce à lui ce travail a pu être réalisé.

Nos remerciements les plus vifs et chaleureux, vont à notre promotrice de mémoire Mme Bouzidi Naïma, Mr El Hatteb pour leur aide, son orientation judicieuse et sa disponibilité, aussi pour la confiance, la patience et la compréhension qu'elle nous a toujours manifesté ...

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury d'avoir accepté de corriger et d'évaluer ce travail.

Nous voulons dire merci à tous les enseignants du département de chimie l'université de Blida pour l'aide pendant notre formation d'étude. A tous personnes qu'est aidé de proche ou loin.

Nous remercions aussi Mr Rabah Omar, Mr Zeboudj et Mr Boudis de CRD, centre de recherche et développement de Boumerdès pour leur aide.

Enfin, on ne peut pas oublier de remercier nos familles, en particulier nos parents, pour leur compréhension, leurs sacrifices et leur patience.

Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.

Je dédié ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur :

A mes très chers parents « Abdellah et Nacima » qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne Qui par leur précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix de la réussite.

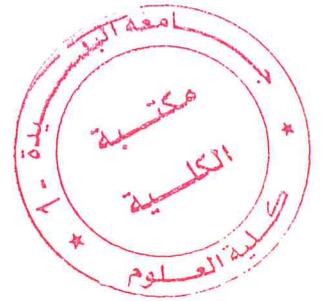
A mon cher frère: *Khir Eddin*

A mes chères amis : *Chichi, Azhar, Chouchou, Ahcen* pour leur aidée et encouragée pendant cette

Période de thèse.

Et à tous mes amis que je n'ai pas mentionnés.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.



Imène

Dédicace

Je remercie dieu tout puissant qui ma permet d'arriver à ce but.

Je dédié ce modeste travail à deux personnes les plus chers à mon cœur :

A mes très chers parents «Omar et Noura » qui ont sacrifié de leur existante pour bâtir la mienne Qui par leur précieux conseils et contient ont sa me guider ver la voix de la réussite.

A mes très chères sœurs : Chaima, Madina, Sabrina

A mon chér frère: *Haithem*

A mes chères amis : *Chichi, Emy, Kenza* et *Hichem* pour leur aidée et encouragée pendant cette

Période de thèse.

Et à tous mes amis que je n'ai pas mentionnés.

A tous ceux que j'aime et que je respecte.

Azhar

Résumé

Les huiles essentielles sont devenues, dans nos jours très employée dans l'industrie agro-alimentaire et cosmétique pour leurs propriétés biologiques et odorantes. Dans le contexte actuel, la production et la commercialisation des huiles essentielles sont caractérisés par une compétitivité des produits provenant de pays en voie de développement et les pays industrialisés.

En absence de réglementation, à l'échelle nationale, qui contrôle ce commerce, la mise sur le marché de produit délibérément modifiés ou avec de fausses indications pour optimiser le cout est devenu incontrôlable. C'est pourquoi les huiles essentielles doivent être de plus en plus contrôlées afin de vérifier leur origine naturelle ou non, leur source, présence de composés toxiques, l'ajout de produits chimiques synthétiques et adultérer ces huiles essentielles par l'ajout d'une huile végétale.

Nous avons vérifié à travers cette étude, le type de fraude qui peut être existé dans les marques des huiles essentielles choisis par le biais de l'étude des paramètres physico-chimiques de trois huiles essentielles commerciales et leur analogues authentiques, les résultats étaient proches de celles des normes AFNOR sauf la densité qui nous a donnée une idée sur la fraude, on a trouvée une probabilité de l'ajout d'une huile végétale dans certaines marques. Ces résultats étaient insuffisantes donc nous avons pensé à réaliser autres méthodes d'analyse dont : la CCM, elle nous a donnée une idée sur la composition chimique de nos huiles et on a trouvé qu'elles sont adultérées par une huile végétale. La GC/MS, elle nous a permet de confirmer l'adultération et préciser la composition chimique de ces huiles. Les teneurs d'acide gras étaient très élevées ce qui peut être expliqué par l'ajout d'une huile végétale.

Mot clés : huiles essentielles commerciales, huiles essentielles authentiques, CCM, GC/MS.

Abstract

Essential oils have become, in our days, very used in the food industry and cosmetics for their biological and odorous properties. In the current context, the production and marketing of essential oils is characterized by the competitiveness of products from developing countries and industrialized countries.

In the absence of regulation at the national level, which controls this trade, the placing on the market of deliberately modified products or with false indications to optimize the cost has become uncontrollable. This is why essential oils must be more and more controlled to verify their natural origin or not, their source, presence of toxic compounds, the addition of synthetic chemicals and adulterate these essential oils by adding a vegetable oil.

We have verified through this study, the type of fraud that can be found in the brands of essential oils chosen through the study of the physico-chemical parameters of three commercial essential oils and their authentic analogues, the results were close to those AFNOR standards except the density that gave us an idea about fraud, we found a probability of adding a vegetable oil in some brands. These results were insufficient so we thought to realize other methods of analysis including: the CCM, it gave us an idea on the chemical composition of our oils and we found that they are adulterated by a vegetable oil. The GC / MS, it allowed us to confirm the adulteration and specify the chemical composition of these oils. The fatty acid contents were very high which can be explained by the addition of a vegetable oil.

Keywords: commercial essential oils, authentic essential oils, CCM, GC/MS.

Liste des tableaux

Tableau 1	Les plus importantes huiles essentielles dans le monde	22
Tableau 2	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles	40
Tableau 3	Résultats des indices chimiques	41
Tableau 4	Résultats des indices physiques, densité	42
Tableau 5	Résultats des indices physiques, indice de réfraction	43
Tableau 6	Composition chimique de l'huile essentielle commerciale de Citron El captain analysée par GC/MS	46
Tableau 7	Composition chimique de l'huile essentielle commerciale de Citron Hemani analysée par GC/MS	46
Tableau 8	Composition chimique de l'huile essentielle commerciale de Citron Hawag analysée par GC/MS	47
Tableau 9	Composition chimique de l'huile essentielle authentique de Citron	47
Tableau 10	Composition chimique de l'huile essentielle commerciale de Lavande Hawag	48
Tableau 11	Composition chimique de l'huile essentielle authentique de Lavande	49
Tableau 12	Composition chimique de l'huile essentielle authentique de Clou de girofle	50
Tableau 13	Composition chimique de l'huile essentielle commerciale de Clou de girofle Hawag	51

Sommaire

Remerciement

Dédicace

ملخص

Résumé

Abstract

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction Générale 1

Conclusion Générale 52

Chapitre I : synthèse bibliographique

I.1.Introduction 3

I.1.1.Bref historique 3

I.1.2.Qu'est ce qu'une huile essentielle ? 4

I.1.3.Localisation des huiles essentielles 4

I.1.4.Rôle des huiles essentielles pour le règne végétal 5

I.1.5.Facteurs de variabilité des huiles essentielles 5

I.1.5.1.Origine botanique 5

I.1.5.2.L'organe producteur 5

I.1.5.3.Origine géographique 5

I.1.5.4.Conservation des plantes 6

I.1.5.5.Le mode d'extraction 6

I.1.6.De la plante à l'huile essentielle 6

Introduction générale

Les huiles essentielles extraites de plantes aromatiques, médicinales et à parfum, sont utilisées depuis des millénaire pour leurs propriétés médicales et olfactives. Aujourd'hui elles sont beaucoup employées dans l'industrie agro-alimentaire et cosmétique pour lesquelles leurs propriétés médicinales sont toujours exploitées.

Les huiles essentielles sont des produits pouvant être très onéreux selon le végétal d'origine, leur facilité à être cultivées ou encore le rendement d'extraction. Pour des raisons de rentabilité, les producteurs et distributeurs sont contraints à réduire leur cout au maximum et à commercialiser des huiles essentielles au plus bas prix. Afin d'être compétitif face à une forte concurrence, certains producteurs ou distributeurs ont recours à la fraude et proposent à moindre cout des huiles de qualité inferieur, sous la dénomination produit naturel de haute qualité.

Les conséquences pour l'acheteur sont économiques et sanitaires. Si une huile adultérée conserve ces propriétés aux yeux d'un acheteur non averti, elle pourrait pourtant poser des problèmes sanitaires. En effet, il se pose la question de la toxicité des adultérants. Egalement l'ajout d'une molécule chirale peut apporter une modification de l'excès énantiomérique pouvant être à l'origine d'une modification de l'activité de l'huile. C'est pourquoi il existe des normes internationales, dans la pharmacopée par exemple, ou encore l'AFNOR (Association Française de Normalisation). L'existence de ces normes contribue aussi à une certaine homogénéité dans la composition et la qualité des huiles essentielles.

Différents type de fraudes ont été mis en évidence lors de diverses recherches sur le sujet :

- Mélange d'une huile essentielle complexe et onéreuse avec une autre de composition proche, plus et surtout moins chère.
- Addition de produits synthétiques bon marché.
- Addition de composés naturels isolés
- Ajout d'huile végétale ou minérale afin d'augmenté le volume sans dénaturer le parfum.

L'analyse des H.E se fait par des méthodes classiques telles que les indices physiques et les indices chimiques d'une part et l'utilisation des méthodes chromatographiques notamment la CCM et la CG/SM.

Dans un premier temps, l'enjeu de ce travail est de mètre en place des méthodes d'analyse physique et chimique, en vue, de l'authentification des huiles essentielles commerciales de : Lavande, Citron et le Clou de girofle. Dans un deuxième temps, il s'agit de mettre en place

des outils d'aide à la décision afin d'obtenir une méthodologie fiable et efficace pour le contrôle de la pureté.

Nous allons exploiter le potentiel que peut offrir le CCM pour contrôler la qualité des H.E et pour confirmer les résultats obtenus, nous avons utilisé la CG/SM comme une méthode robuste à des indices physico-chimiques.

Ce mémoire contient trois chapitres :

- Le premier chapitre comporte des généralités avec une synthèse bibliographique.
- Le deuxième chapitre représente la partie expérimentale.
- Le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussion.
- Une conclusion générale vient pour résumer les principaux résultats obtenus.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : synthèse bibliographique

I.1.Introduction:

Les plantes de façon générale et en particulier aromatiques, se caractérisent par deux types de métabolismes : le métabolite primaire fournit les constituants de base en quantité élevée, les plus importants sont les sucres et leurs dérivés, les lipides et les protéines. Le métabolisme secondaire produit des métabolites en faible quantité, mais dont les applications dans différents domaines, en particulier à intérêt pharmaceutique et cosmétique, voir nutritionnel, sont de la plus grande importance. Les huiles essentielles ou essences, font partie de ce groupe de métabolite avec les alcaloïdes et les phénols.

I.1.1.Bref historique

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales «P.A.M.» est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles H.E datent de l'an 3000 avant J.C [1]. Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses.

En Egypte, l'utilisation de baumes et résines aromatiques remonte à l'époque des pharaons : embaumement, momification et divers autres usages. Les grands prêtres et médecins égyptiens ont transcrit leurs connaissances sur des papyrus et leur savoir, a constitué le fondement de l'aromathérapie. Les connaissances égyptiennes ont été diffusées par les médecins grecs de la Rome Antique et par Hippocrate.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques [2]. Dans l'histoire moderne, les vertus thérapeutiques des huiles essentielles occupent une place de plus en plus importante. En 1928 le chimiste français René-Maurice Gatte Fosse a utilisé le terme aromathérapie pour décrire les propriétés curatives des huiles essentielles lorsqu'il a découvert par accident que la lavande a guéri une brûlure à sa main. En 1964 le docteur

I.1.4. Rôle des huiles essentielles pour le règne végétal

Nous ne savons pas exactement ce que représentent les H.Es pour le règne végétal. Les plantes les utilisent pour se protéger contre les virus et tous pensent qu'il s'agit d'hormones végétales. D'autres considèrent que les huiles sont des messagers entre sorte de parasites et de microbes [14] (des travaux ont montré que les monoterpènes et les sesquiterpènes peuvent jouer des rôles importants dans la relation des plantes avec leur environnement, par exemple, le 1,8-cinéole et le camphre inhibent la germination des organes infectés ou la croissance des agents pathogènes issus de ces organes) [15, 16].

I.1.5. Facteurs de variabilité des Huiles essentielles

La composition chimique de l'huile essentielle de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce, ces variétés chimiques sont communément appelées chémotypes. Le mot chémotype est dérivé de chimiotype ou chimiovariété. Cette variation peut être due à de nombreux facteurs, dont nous citons les plus importants :

I.1.5.1. Origine botanique

La composition d'une H.E varie en fonction de l'espèce productrice. En effet, l'extraction de l'H.E d'un même organe de deux plantes différentes ne donne pas la même composition chimique [17,18], par exemple deux espèces de sauge : la sauge officinale (*Salvia officinalis*) et la sauge sclérée (*Salvia sclarea*), qui peuvent être vendues toutes les deux sous l'appellation d'essence de sauge. La première, riche en cétones neurotoxiques, peut provoquer des crises d'épilepsie, alors que la seconde possède des esters aromatiques anti-épileptisants [19].

I.1.5.2. L'organe producteur

La composition et le rendement d'une H.E varient selon la partie de la plante à partir de laquelle elle est extraite [20].

I.1.5. 3. Origine géographique

Cela permet de connaître l'environnement dans lequel grandit la plante et de caractériser ainsi l'huile essentielle obtenue. Il y a des différences de composition chimique selon le pays d'origine.

Une même plante grandissant dans des lieux différents avec changement de situation géographique (altitude et latitude), avec variation de la nature du sol, peut produire des huiles essentielles différentes [21]. Par exemple, le thym vulgaire à géraniol ne produit cette molécule de géraniol qu'en hiver alors que l'acétate de géranyl la remplacera en été [22].

I.1.5.4.Conservation des plantes

Les plantes doivent être séchées à l'air et à l'ombre. En effet, des modifications chimiques, physiques et biochimiques dues à l'action de la lumière et de la température peuvent influencer sur la qualité de l'huile [20].

I.1.5.5.Le mode d'extraction

Il existe plusieurs modes d'extraction des huiles essentielles qui peuvent faire évoluer la composition de l'H.E.

I.1.6.De la plante à l'huile essentielle

Il existe plusieurs méthodes pour l'extraction des H.E :

I.1.6.1.Par distillation

Deux méthodes sont décrites ci-dessous :

-La méthode de Moritz : il s'agit d'une hydrodistillation simple qui consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau. L'ensemble est, ensuite, porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile se sépare par différence de densité.

L'hydrodistillation peut s'effectuer sans ou avec retour d'eau dans le ballon. Ce recyclage est dit cohobage et le système conçu pour l'opération est appelé Clevenger (**Figure.02**). Son intérêt

majeur réside dans l'utilisation du système de cohobation permettant une distillation en continu sans modifier la quantité en eau du ballon.

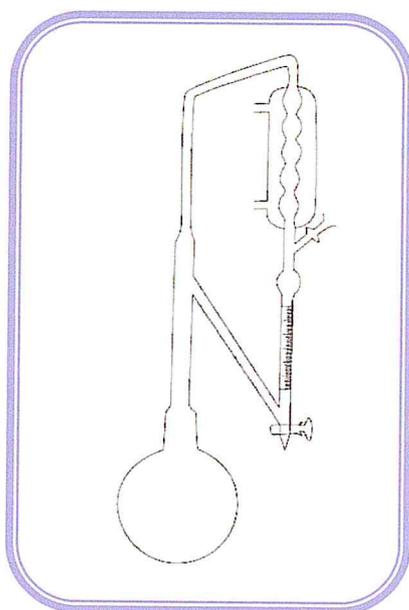


Figure.02 : Montage Clevenger.

-La méthode de Parnas-Wagner : dans la distillation à vapeur saturée (**Figure.03**), la matière végétale est placée sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic et n'est pas en contact avec l'eau. Les principes volatils sont entraînés par les vapeurs d'eau puis refroidis et enfin séparés de la phase par décantation [7, 5].

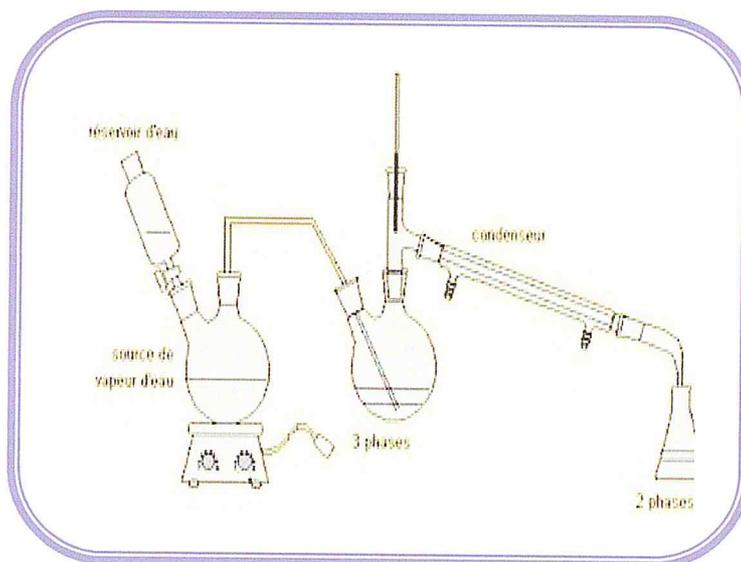


Figure.03 : Entraînement à la vapeur.

I.1.6.2.Par enfleurage

C'est une méthode guère utilisée, car trop complexe sauf pour les fleurs principalement. Celles-ci sont étalées délicatement sur des plaques grasses qui absorberont tout le parfum. Les corps gras vont, ensuite, être épuisés par un solvant. Une fois l'arôme des fleurs absorbé, des fleurs fraîches sont rajoutées, et ceci jusqu'à saturation du corps gras. Au bout de 24 heures, le corps gras et les H.E sont séparés [7].

I.1.6.3.Extraction au CO2 supercritique

Dans cette technique, un courant de CO2 à forte pression fait éclater les poches à essence et entraîne les H.E qui seront, ensuite, récupérées [9].

I.1.6.4. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes

Le montage obtenu se rapproche sensiblement d'un montage d'hydrodistillation classique. Le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier. Les graines sont en permanence humides, ce

qui ne laisse aucune chance à la réalisation d'éventuelles réactions secondaires, néfastes à la qualité du produit obtenu [23].

Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes s'articule autour de trois points importants :

La quantité de matière végétale traitée,

La puissance micro-ondes appliquée,

La durée totale de l'extraction.

I.1.7.Composition des huiles essentielles

I.1.7.1.Origine biogénique des huiles essentielles

Comme toutes les plantes sont classées en familles, les produits naturels sont aussi classés en deux familles. Les majeures parties des composés des huiles essentielles sont : le groupe des terpénoïdes d'une part, et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle propane d'autre part.

Groupe des terpénoïdes

C'est le groupe le plus important. Il comprend des monoterpènes (10 atomes de carbone dans carbone), des sesquiterpènes (20 atomes de carbone), des diterpènes (30 atomes de carbone).....

Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 atomes de carbone de formule générale $[C_5H_8]_n$. La molécule de base est l'isoprène. Ce dernier, sous sa forme réactive est l'isoprénoy pyrophosphate IPP qui se transforme en diméthylallyl pyrophosphate DMAPP.

Les composés IPP et DMAPP réagissent ensemble pour former le géranyl pyrophosphate GPP, précurseur des monoterpènes en C10. On trouve dans la nature plus de 900 composés. Une deuxième molécule d'IPP réagissant sur le GPP, fournit farnésyl pyrophosphate FPP, précurseur des sesquiterpènes en C15, puis une troisième molécule d'IPP réagissant sur FPP fournit le géranylgeranyl pyrophosphate GGPP, précurseur des diterpènes en C20. Ces composés sont principalement présents dans les plantes supérieures dans les résines, ainsi que dans les champignons. Il existe environ 2700 diterpènes dans la nature dont la majorité est sous forme cycliques [24, 25].

Les monoterpènes

Ce sont des hydrocarbures aliphatiques, saturés ou insaturés. Ils peuvent être acycliques comme le myrcène, ocymène..., ou cycliques comme le pinène, camphène..., et même aromatiques comme le p-cymène, aussi, ils peuvent contenir des atomes d'oxygènes (Figure.04).

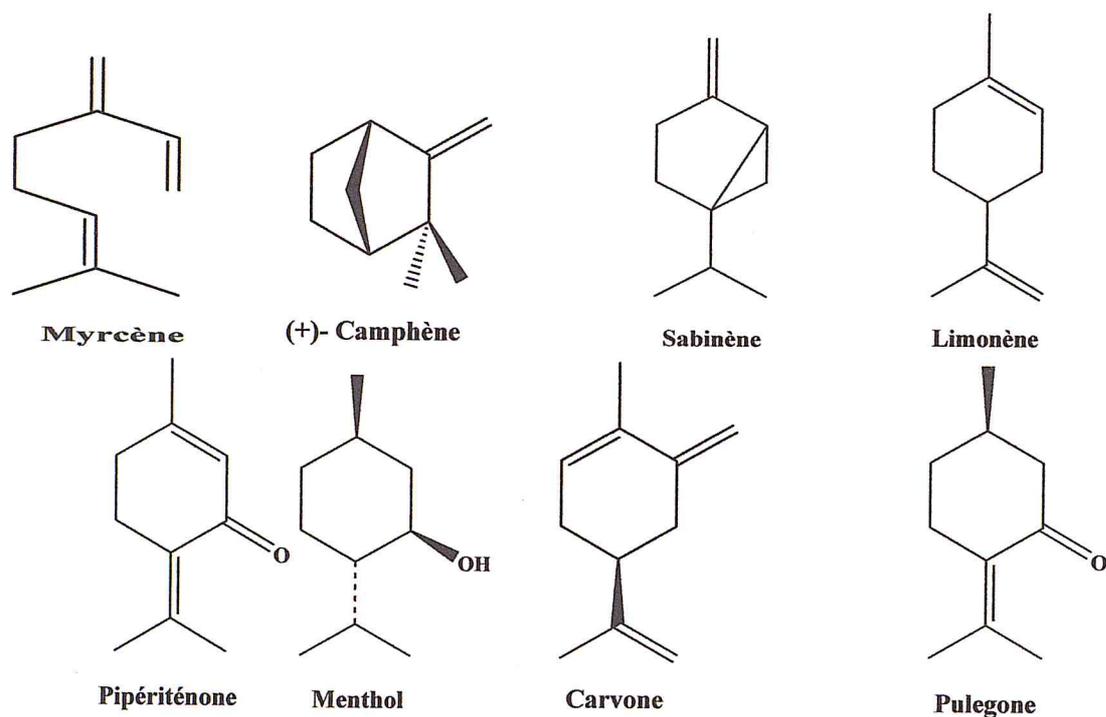


Figure.04 : Structure chimique de quelques monoterpènes extraits des H.E.

Les sesquiterpènes [26]

Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent carbures, alcools, cétones étant les plus fréquents. On trouvera ci-dessous quelques exemples de sesquiterpènes caractéristiques des H.E (Figure.05).

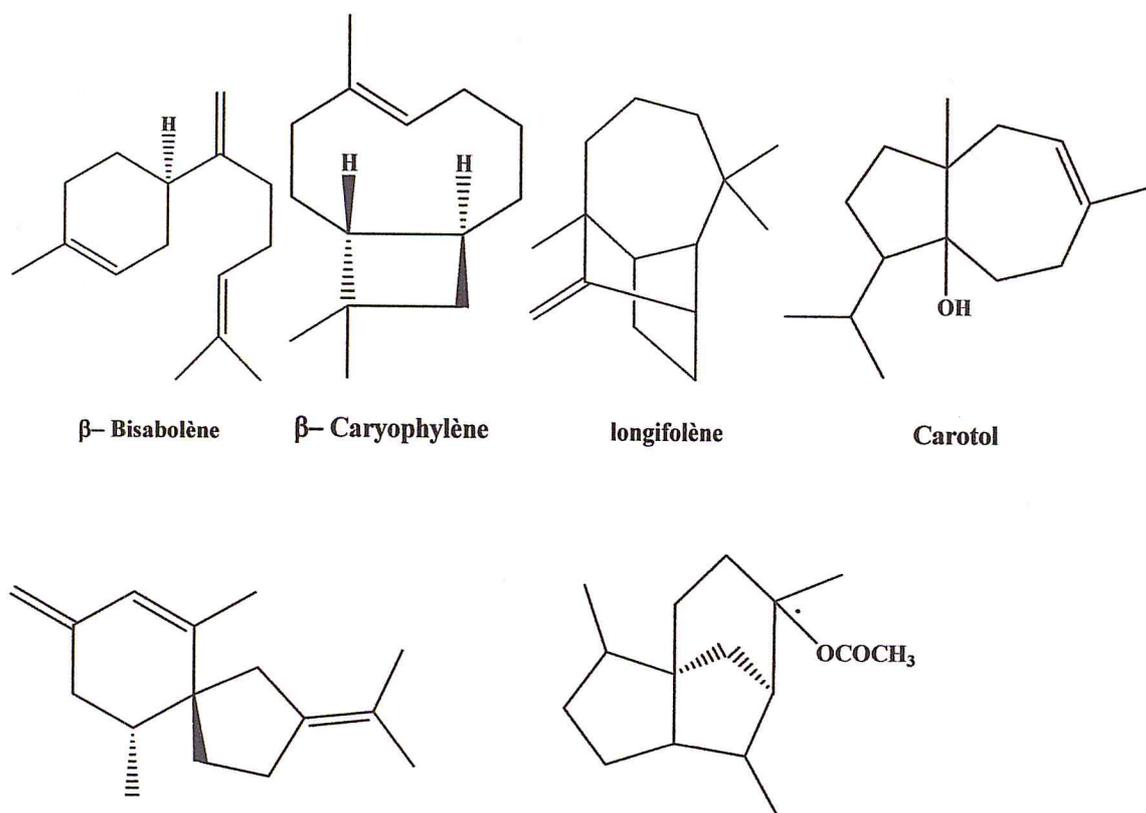


Figure.05 : Structure chimique de quelques sesquiterpènes extraits des H.E.

Les dérivés aromatiques des huiles essentielles sont surtout des dérivés de l'acide cinnamique (C6-C3), celui-ci provient de l'acide shikimique obtenue à partir du phospho-énol-pyruvate et du D-rythrose-4-phosphate [27].

I.1.7.2. Les phénylpropanes (composés aromatiques)

Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénole, l'anéthole, l'estragole et bien d'autres. Ils sont davantage fréquents dans les huiles essentielles d'*Apiaceae* (persil, anis, fenouil, etc.) et sont caractéristiques de celles du clou de girofle, la vanille, la cannelle, le basilic, l'estragon, etc. (Figure.06) [9, 28].

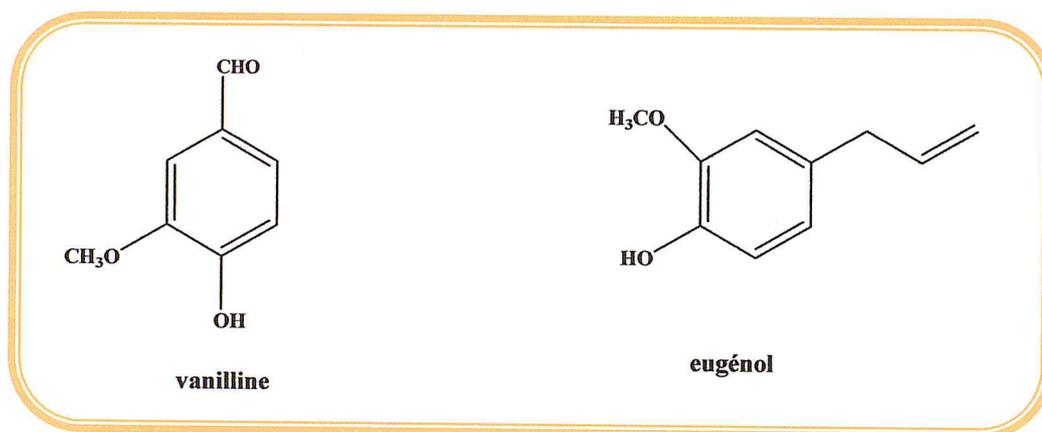


Figure. 06: Structure chimique de quelques composés aromatiques extraits des H.E.

I.1.8. Propriétés physiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques, elles sont généralement des lipides à la température ordinaire, elles sont solubles dans les alcools, et dans la plus part des solvants organiques.

D'après, les huiles essentielles sont divisées en quatre classes, suivant leurs couleurs:

- Les H.E incolores
- Les H.E. jaunes.
- Les H.E. bleues.
- Les H.E. vertes brunes ou jeunes verts.

Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C.

Leur densité est inférieure à celle de l'eau, varie de 0,75 à 0,99.

Elles ont un indice de réfraction élevé.

Elles sont très altérables, sensibles à l'oxydation, elles sont donc de conservation limitée.

Dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels.

I.1.9. Méthodes d'analyses des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont considérées comme une matière première destinée à divers secteurs d'activités tels que la parfumerie, la cosmétique, l'industrie pharmaceutique et de l'agroalimentaire, d'où la connaissance de la composition chimique reste une étape importante et nécessaire.

L'analyse quantitative et qualitative des huiles essentielles fait appel à plusieurs techniques et méthodes. Parmi ces méthodes nous parlons des méthodes microanalytiques qui permettent l'identification et le dosage des produits même à l'état de traces. Ces méthodes consistent en l'utilisation des techniques de séparation et d'analyse des structures chimiques.

I.1.9.1.Méthodes de séparations chromatographiques

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase. On peut classer les méthodes chromatographiques selon la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mis en œuvre dans la séparation.

I.1.9.1.1.Chromatographie analytique sur couche mince (CCM)

Principe : cette méthode repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis de la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu polyphénolique et/ou flavonique de l'extrait [15].

I.1.9.1.2.Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse CPG est une technique très répandue. Elle possède plusieurs avantages : sensibilité, polyvalence, rapidité de mise au point des analyses nouvelles et aux possibilités d'automatisation, qui augmentent plus son intérêt [29]. La technique a été perfectionnée et permet maintenant de séparer les constituants des mélanges très complexes contenant jusqu'à 200 composés [30 ,31]. Elle s'applique principalement aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition. Elle est de plus en plus utilisée dans les principaux domaines de la chimie. Le mélange à analyser est vaporisé à l'entrée d'une colonne, qui renferme une substance active solide ou liquide appelée phase stationnaire, puis il est transporté à travers celle-ci à l'aide d'un gaz porteur (ou gaz vecteur). Les différentes molécules du mélange vont se séparer et sortir de la colonne les unes après les autres après un certain laps de temps qui est fonction de l'affinité de la phase stationnaire avec ces molécules [9, 32].

Pour chacun des composés, deux indices de rétention polaire et apolaire, peuvent être obtenus. Ils sont calculés à partir des temps de rétention d'une gamme étalon d'alcane ou à plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kováts) [33]. Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un composé, ont tendance à varier d'une analyse à l'autre, notamment du fait du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence (mesurés au laboratoire ou décrits dans la littérature). Toutefois, il est fréquent d'observer des variations, parfois importantes, lorsqu'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire de Corse et ceux de la littérature (en particulier sur colonne polaire). C'est pourquoi la comparaison des indices sur deux colonnes de polarité différente est nécessaire.

Malgré tout, ceci ne peut suffire à une bonne identification, sans l'apport du couplage entre la CPG et une technique d'identification spectroscopique : en général la spectrométrie de masse CPG/SM.

I.1.9.1.3. Chromatographie en phase gazeuse/Spectrométrie de masse (CPG/SM)

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.

Les spectres de masse obtenus sont ensuite comparés avec ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles, commerciales (NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library [34], Wiley Registry of Mass Spectral Data [35], contenant plusieurs milliers de spectres, König-Joulain, intitulée « Terpenoids and Related Constituents of Essential Oils » contenant plus de 1200 composés) ou construite au laboratoire. Les spectres de masse expérimentaux peuvent aussi, si besoin, être comparés à des spectres contenus dans des bibliothèques non informatisées (Fig.07) [36-39]. Lorsqu'un ou plusieurs constituants de l'huile essentielle sont inconnus dans les bibliothèques de comparaison et qu'ils ne sont pas décrits dans la littérature, il est alors nécessaire de les purifier par distillation fractionnée ou par des techniques chromatographiques préparatoires telles la Chromatographie sur Couche Mince (CCM), la Chromatographie liquide sur Colonne ouverte (CC), la Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) ou encore la Chromatographie en Phase Gazeuse Préparatoire (CGP). L'objectif est d'aboutir à leur identification structurale par les techniques

spectroscopiques usuelles : Résonance Magnétique Nucléaire du proton (RMN-1H) et du carbone-13 (RMN-13C), SM, IRTF,... [40].

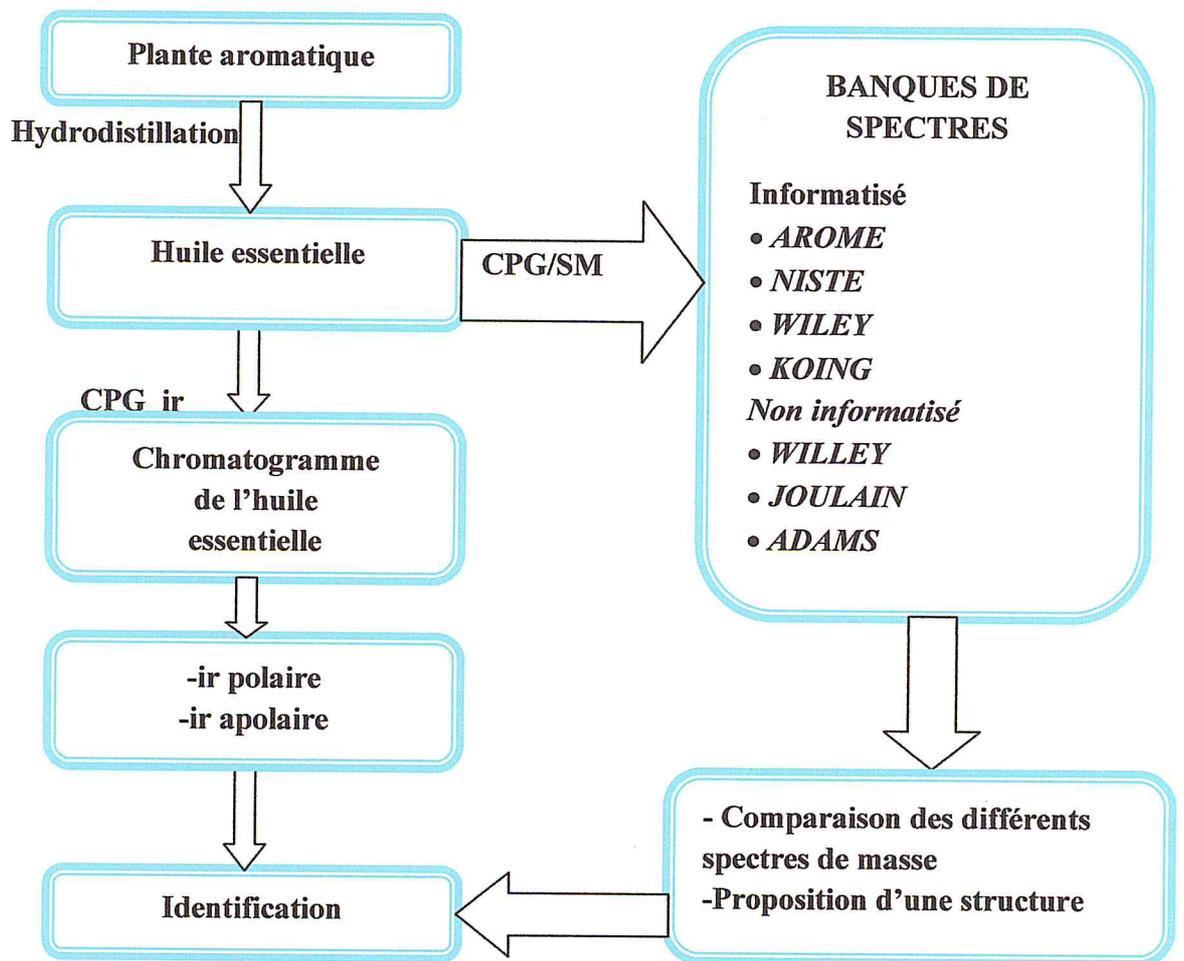


Figure.07 : Organigramme d'identification des huiles essentielles par CPG et CPG-SM

1.1.10. Le contrôle des huiles essentielles

La valeur commerciale d'une huile essentielle est la plus part du temps estimée d'après ses auxquelles s'ajoutent un certain nombre de constantes appelées « indices » qui ont fait l'objet d'étude statistique très importante. Ces constantes ont été normalisées au sein d'organismes nationaux exemple en France : l'AFNOR (Association Française de Normalisation) ou encore l'ISO (International Standard Organisation) et généralement dans toute les pharmacopées existantes.

Elles consistent à mettre au point les méthodes de détermination des constantes physico-chimiques en fixant les conditions opératoires et les facteurs pouvant influencer la mesure, et en mettant au point des monographies pour les huiles essentielles les plus courantes avec

indication détaillée de leurs caractéristiques. Outre leur facilité de mise en œuvre, ces méthodes permettent donc d'évaluer la qualité d'une essence, de procéder à une analyse de routine, d'étudier l'évaluation dans le temps, et de comparer les échantillons [41].

I .1.10.1.Caractères physiques

Densité

Densité (relative) : rapport qui existe entre la masse du volume d'un corps et la masse du même volume d'un corps de référence (eau pour les corps solides et liquides, air pour les corps gazeux), dans les mêmes conditions de température et de pression.

Densité (absolue) : rapport de la masse d'un corps à son volume [42].

Expression de la densité

La densité, notée d , s'exprime de la sorte :

$$x = \frac{\rho_{\text{corps}}}{\rho_{\text{réf}}}$$

Où ρ_{corps} est la masse volumique du corps considéré, et $\rho_{\text{réf}}$ est la masse volumique du corps de référence.

S'agissant d'un rapport entre deux mesures de même unité, la densité s'exprime par un ratio et donc n'a pas d'unité [43].

Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,00045(t' - t) \quad [44].$$

n_D : l'indice de réfraction mesuré à la température 20° C.

$n_D^{t'}$: l'indice de réfraction mesuré par le réfractomètre à la température ambiante au moment de lecture.

t : température = 20°

t' : la température ambiante au moment de lecture.

I.1.10.2.Caractères chimiques : tels que :

Indice d'acide

Définition : l'indice d'acide d'un corps gras est la quantité de potasse en mg nécessaire pour neutraliser son acidité libre. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps.

Principe : il est déterminé par un dosage en retour. Le corps gras réagit avec un excès connu de potasse alcoolique. L'excès de potasse est alors dosé par une solution d'acide chlorhydrique. Le corps gras est mis en solution par un solvant organique neutre [45].

L'intérêt de la détermination de cet indice : il permet de vérifier la qualité d'une H.E, notamment en ce qui concerne sa dégradation dans le temps durant le stockage [46].

Indice d'ester

Définition : l'indice d'ester d'un lipide est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour saponifier les acides gras estérifiés contenus dans un gramme de corps gras.

L'intérêt : Il permet de déterminer la masse molaire (donc la structure) des glycérides.

Principe : Cet indice n'est pas mesuré, il est calculé :

$$\text{Indice d'ester} = \text{indice de saponification} - \text{indice d'acide} [47,48].$$

Indice de saponification

Définition : l'indice de saponification correspond à la masse de potasse (KOH) - en mg - nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et pour saponifier les acides gras combinés dans un gramme de corps gras.

La quantité de potasse KOH utilisée varie avec la masse molaire des acides gras. Plus la masse molaire est élevée, plus l'indice de saponification est faible.

Intérêt : l'indice de saponification est donc une mesure indirecte de la masse molaire des acides gras.

Principe : Il s'agit d'un dosage en retour. On fait réagir à chaud une solution d'acide gras avec un excès de potasse KOH. Cet excès est ensuite dosé par une solution d'acide chlorhydrique (HCl).

Si l'on porte à ébullition un corps gras en présence de KOH, les acides gras se saponifient ; c'est une réaction totale lente à température ambiante mais qui prend entre 40 à 60 minutes par chauffage par ébullition douce. La potasse réagit avec les acides gras libérés pour former du savon [49].

I.1.10.3. Caractères chromatographiques et spectrophotométriques : différentes techniques sont utilisées telles que la CCM, CPG, CPG/SM, HPLC et HPLC/SM [41].

I.1.11. Action biologique, effets thérapeutiques

Depuis des millénaires, les huiles essentielles sont employées pour guérir et prévenir les maladies. Hommes et femmes ont pu constater, de manière empirique dans un premier temps et scientifique plus tard, l'efficacité de ces petites gouttes. A mesure que les études, les expériences et les témoignages s'accumulaient, des principes communs se sont dessinés [5,6]. De nombreuses études ont montré que l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires [50] et les effets synergiques entre les composants. La nature des structures chimiques qui la constituent, mais aussi leurs proportions jouent un rôle déterminant [52]. La description de quelques principales propriétés thérapeutiques observées lors de l'utilisation des huiles essentielles sont :

Propriétés antiseptiques, antibactériennes et antifongiques

Plusieurs études ont montré que les huiles essentielles sont capables de s'attaquer aux microbes les plus puissants, comme le staphylocoque, le bacille de koch (tuberculose) ou le bacille typhique (typhoïde). Les huiles essentielles ont une double action contre les microbes : elles peuvent les tuer (effet bactéricide) et elles en arrêtent la prolifération (effet bactériostatique).

Propriétés antivirales

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les huiles essentielles, ce qui confère à ces dernières la capacité de combattre certaines pathologies virales. Les huiles essentielles arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus tout en stimulant le système immunitaire.

Propriétés anti-inflammatoires

Les aldéhydes contenus dans un grand nombre d'huiles essentielles ont la propriété de combattre les inflammations. Un cas exemplaire est celui des huiles essentielles de clou de girofle qui calme les douleurs dentaires.

Propriétés cicatrisantes

Les huiles essentielles présentent des propriétés cicatrisantes reconnues depuis l'antiquité et utilisées en temps de guerre pour soigner les blessés. En effet, elles ont le pouvoir de régénérer les tissus qui ont été abimés et de favoriser la cicatrisation des blessures.

Propriétés circulatoires

Un grand nombre d'huiles essentielles sont de puissants soutiens pour notre système circulatoire. Elles ont la capacité d'activer la circulation sanguine, de réduire les hémorroïdes et de soulager les jambes lourdes. Parmi les huiles essentielles qui ont une action circulatoire, nous retrouvons : les huiles de citron, de genièvre, de menthe poivrée et sauge.

Propriétés digestives

Les huiles essentielles ont une action manifeste sur le système digestif. Elles sont efficaces contre la formation de gaz au niveau abdominal (huiles essentielles de basilic, d'anis) et elles favorisent la formation des sucs gastriques nécessaires à une bonne digestion (huiles essentielles de cumin, d'estragon, de menthe poivrée).

Propriétés antiparasitaires

Les huiles essentielles de quelques plantes aromatiques comme le géranium, la citronnelle, la menthe et la lavande sont efficaces pour protéger des attaques des insectes, en particulier des moustiques.

Propriétés de régulation métabolique

Les huiles essentielles ont la capacité de réguler l'action de nos glandes. Les mécanismes subtils et délicats mis en jeu par ces dernières étant véritablement complexes, il vaut toujours mieux demander les conseils d'un expert en aromathérapie.

Propriétés antispasmodiques

Les huiles essentielles de marjolaine, de lavande peuvent arrêter les spasmes, c'est-à-dire les contractions qui se manifestent de façons involontaires dans le corps, aussi bien au niveau rénal qu'au niveau des viscères.

Propriétés désodorisantes et purifiantes

A la maison, les huiles essentielles diffusées régulièrement dans l'atmosphère parfument et assainissent l'air que nous respirons.

I.1.12. Utilisation des huiles essentielles

Les H.Es s'utilisent selon différentes voies. Nous pouvons les avaler, les respirer ou les utiliser en application directes sur la peau :

La voie orale

Elle doit être utilisée uniquement sur conseils du médecin aromathérapeute. Nous conseillons de ne jamais prendre une huile pure dans la bouche sous peine de désagréments qui peuvent aller jusqu'à la brûlure. Aussi, il ne faut jamais prendre plus de trois gouttes [52,53].

La voie respiratoire

Les H.Es sont, très vite, absorbées par toutes les petites cellules ciliaires qui tapissent notre arbre respiratoire depuis les fosses nasales jusqu'au bout de nos alvéoles pulmonaires.

La voie cutanée

C'est la voie idéale car efficace et sans danger. Généralement, les huiles sont utilisées à des concentrations très diluées (trois gouttes dans une cuillerée à café). Nous pouvons les

employer pour massage ou simplement en application selon la zone et l'affection à traiter. D'autres formes sont aussi possibles : pommades, bain, etc. [54]. Dans tous les cas, les H.E pénètrent dans notre corps pour atteindre la circulation sanguine afin d'être acheminées jusqu'au site malade [55].

I.1.13. Toxicité des huiles essentielles

Dans le monde actuel des produits naturels, il convient de ne pas utiliser ces substances de façon abusive. Les huiles essentielles doivent être prises à bon escient et à doses adaptées afin d'éviter de dommageables effets secondaires, parce que l'efficacité et la toxicité ce n'est souvent qu'une question de quantité [9,55]. Il convient d'ailleurs de relativiser ce risque car il concerne essentiellement les personnes fragiles, notamment les bébés et les enfants, les personnes âgées et les femmes enceintes ou allaitantes. La toxicité provient de la présence de certaines molécules aromatiques pour lesquelles des risques ont été identifiés suite à des tests. Une famille biochimique particulière, celle des cétones, est ici particulièrement visée: elle présente une neurotoxicité et un risque abortif.

Pour une autre famille, celle des phénols, sa causticité sera particulièrement tournée vers la peau (dermocausticité) et le foie (hépatotoxicité). Ces huiles essentielles à phénols ne s'utiliseront donc pas ni par voie cutanée ni par voie rectale, seule la prise orale sera possible. En cas de traitement long, pour éviter tout risque hépatotoxique, il faudra observer une fenêtre thérapeutique.

Une autre toxicité provient des HE contenant des furocoumarines et pyrocoumarines. Leur application cutanée, ou même leur prise par voie orale, peut provoquer, sous l'effet prolongé du soleil, des réactions érythémateuses susceptibles de favoriser la carcinogénèse et l'accélération de la mélanogénèse.

Enfin, l'absorption orale d'huiles essentielles riches en monoterpènes (toutes les espèces de pins et de sapins, de genévriers et même le santal blanc) sur de longues périodes peut enflammer et détériorer à terme, les néphrons (les unités fonctionnelles du rein). C'est ce que l'on nomme par néphrotoxicité [25, 56].

Lorsque tous ces effets toxiques sont présents à l'esprit, avoir recours aux huiles essentielles en parfaite innocuité n'est qu'une question de choix : celui de l'huile, de la dose, de la durée et de la voie d'administration. Comme pour un médicament, il existe pour chaque huile essentielle un équilibre entre le bénéfique et le risque qui doit aussi être envisagé en fonction du sujet.

I.1.14. Conservation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se conservent plusieurs années. Elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites de 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, de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts écarts de température et le contact avec l'air, il faut bien refermer les flacons après usage car les arômes s'évaporent dans l'atmosphère. Tenir les flacons hors de portée des enfants, les flacons doivent être stockés en position verticales, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique [57]).

I.2.1. Marché des huiles essentielles

Dans le contexte actuel, la production et la commercialisation des huiles essentielles sont caractérisées par une compétitivité des produits provenant de pays en voie de développement et les pays industrialisés. La situation de la demande est complexe [58].

Tout projet de production d'huiles essentielles pour les marchés régional et international doit considérer avec attention l'évolution de la demande et les tendances de prix pendant une certaine période. Dans le contexte de la mondialisation, la concurrence est rude, il est difficile d'aborder ce marché et de s'y maintenir. Il est donc facile d'être éjecté d'où le souci de vouloir pénétrer ce marché en disposant des produits compétitifs conformes aux normes recommandées. Il est donc judicieux de choisir les plantes qui fournissent les huiles essentielles et d'autres extraits aromatiques très recherchés sur le plan mondial.

Dans les vingt dernières années, il y a eu une augmentation significative des applications des huiles essentielles dans les parfumeries et les industries cosmétiques, cependant, dans la même période les huiles essentielles synthétiques ont pris le monopole au détriment des huiles naturelles, surtout dans le secteur de la parfumerie. Un producteur des huiles essentielles devrait analyser le marché l'évolution des prix en fonction de l'offre et de la demande au niveau mondial. Malheureusement, cette approche est souvent difficile à cause de manque de l'accès à l'information actualisée d'ordre économique dans ce domaine. Les données disponibles sont consignées dans les paragraphes suivants, elles datent de la fin du siècle dernier et illustrent comment le secteur des huiles essentielles est un générateur des revenus non négligeables.

La production mondiale des huiles essentielles est estimée à environ 50000 tonnes et le marché représente 700 millions de dollars. Près de 65% de la production mondiale provient de

l'extraction de la partie d'arbre ou arbustes cultivés ou présents à l'état sauvage dans la nature floristique. Les plantes non arbustives qui représentent le reste de la production de 35% sont en majorité cultivées [59].

I.2.2. Critères de qualité

La sécurité d'emploi des produits cosmétiques contenant des HE est en grande partie liée à la qualité des matières premières mises en œuvre et à la formulation du produit fini.

Pour garantir leur qualité, les HE devront notamment être obtenues à partir de matières premières précisément identifiées, contrôlées selon des procédés définis, présenter des caractères physico-chimiques précis, être conservées de façon satisfaisante.

Les caractéristiques physiques, organoleptiques, chimiques et chromatographiques des HE sont définies sur le plan français par des normes établies par l'AFNOR, élaborées par une commission spécifique (T 75 A). Ces normes sont établies en étroite collaboration avec les producteurs ainsi que les importateurs et sont le fruit d'un échange entre experts.

La plupart de ces normes sont reprises sur le plan mondial pour devenir des normes ISO en prenant en considération les informations des experts mondiaux. Le groupe de travail responsable de ces normes est le groupe ISO TC 54 (International Organization for Standardization / Normalisation des méthodes d'analyse et des spécifications pour les huiles essentielles) [60].

- Dans le tableau N°1 on a mentionné les plus importantes huiles essentielles dans le monde en fonction de leurs volumes et production et leurs valeurs en \$US.

Tableau 1 : huiles essentielles les plus importantes dans le monde [61]

Huiles essentielles	Quantité (tonnes)	Valeur (millions \$ US)
Orange	26000	58.5
Menthe (Cornmint)	4300	34.4
Citronnelle	2830	10.8
Menthe poivrée	2367	28.4
Citron	2158	21.6
Eucalyptus type citronnellal	2092	7.3
Clou de girofle	1915	7.7
Bois de cèdre (Etats-Unis)	1640	9.8
Litsea cubeba	1005	17.1
Sassafras (brésil)	1000	4.0
Lime (brésil)	973	7.3
Menthe verte (Spearmint)	851	17.0
Bois de cèdre (Chine)	800	3.2
Lavandin	768	6.1
Lavandula intermedia Emeric ex Loisel	750	3.0
Camphre	725	3.6
Coriandre (graine)	710	49.7
Pamplemousse	694	13.9
Patchouli	563	6.8

I.2.3.Outil de contrôle et de détection d'adultération

Par définition, l'adultération fait référence à la notion de fraude, en altérant une manière de façon contraire aux dispositions légales ou réglementaires [62]. De nos jours, la demande en approvisionnement et le commerce international de plantes destinées au domaine des compléments alimentaires, de la cosmétique, de la parfumerie ou de l'agroalimentaire sont en croissance constante. Ainsi, les ventes d'ingrédients naturels tels que les huiles essentielles, les extraits de plantes, ou les poudres de plantes devraient croître de 5 % par an sur la période 2012-2017 [63]. Le marché des cosmétiques naturels et biologiques représente 3 % des ventes mondiales (9,1 milliards de dollars) soit une croissance de plus de 8 % depuis 2007. Sur le territoire français et sur la même période, cette croissance est bien plus marquée (+38 %) [64]. En phytothérapie, selon l'Organisation Mondiale de la Santé, le commerce mondial a été estimé, en 2008, à 83 milliards de dollar. Que ce soit dans le milieu industriel, universitaire, ou gouvernemental, toutes les personnes travaillant avec des plantes ont, à un moment ou autre, été confrontés à des préoccupations concernant la qualité et l'authenticité de ces extraits [65]. Les plantes ou extraits de plantes soient utilisés depuis longtemps dans des médecines traditionnelles, des notions de qualité et de contrôle concernant la sécurité, et l'authenticité doivent être considérées [66]. C'est en l'absence de réglementation sur la qualité des produits

que des falsifications / erreurs ont été commises, comme par exemple en 1997, où plusieurs lots de *Plantago major* et de *Plantago lanceolata* ont été adultérés avec de la digitale, ce qui a causé plusieurs cas d'arythmie cardiaque graves aux Etats-Unis [67,68].

Les notions d'adultération sont parfois complexes. Par définition il s'agit d'une pratique frauduleuse consistant en l'ajout d'un produit de moindre valeur à un autre produit. Suivant le domaine, les adultérations sont parfois bien connues.

L'adultération d'un produit fini ne se résume pas seulement à l'addition d'un composé synthétique, mais peut dans certains cas être plus compliquée. Chaque domaine d'activité apporte son lot d'adultérations plus ou moins connues, et il est donc utile d'en prendre connaissance au cas par cas. Le domaine des huiles essentielles en est un exemple tout à fait significatif.

De par leur caractère « naturel » porteur de valeur ajoutée, leur utilisation est en constante augmentation ce qui en fait une cible privilégiée des fraudeurs. Dans ce domaine, l'authenticité peut être définie comme un extrait absent de corps étranger, de matière étrangère, ou d'impuretés. Chaque huile essentielle possède ses propres caractéristiques, qui sont d'un point de vue réglementaire, établies au travers d'une certification/label de qualité assurant leur composition chimique.

I.2.4. Quelques huiles essentielles

Les HE sont largement répandus dans le règne végétal, elles sont réparties dans une 60èmes de Familles : Astéracées (armoise, camomille...), Lamiacées (lavande, menthe, romarin, thym...), Lauracées (camphrier, cannellier, laurier...), Myrtacées (eucalyptus, giroflier...), Apiacées (carotte, cerfeuil, persil...), Abiétacées (pin, sapin...), Rutacées (citron, orange...), Poacées, Zingibéracées, Pipéracées... [69].

Nous avons opté pour l'étude des H.E : la lavande, le citron et le clou de girofle.

I.2.4.1. Lavande

La lavande est un arbrisseau buissonnant odoriférant qui appartient à la famille des Lamiacées. Ses feuilles sont élancées et de couleur gris-vert. Selon les variétés, il atteint une hauteur de 20 à environ 90 cm.

Taxonomie

La lavande appartient à l'embranchement des Spermaphytes, et suivant la classification classique des plantes à fleurs, elle est classée comme suit : [70]

Règne : *Plantae*

Sous règne : *Tracheobionta*

Division: *Magnoliophyta (Angiospermes)*

Classe: *Magnoliopsida (=Dicotylédones)*

Sous-classe: *Asteridées*

Ordre: *Lamiales*

Famille: *Lamiacées*



Figure 8 : Systématique de la Lavande

Elle est appelée communément par la population locale «**khzama**» [71].

L'huile essentielle de lavande

L'extraction de l'huile essentielle de lavande se fait par distillation à la vapeur d'eau.

Ce processus demande patience et douceur et passe par un appareil bien connu sous le nom d'alambic. C'est à la sortie de cet alambic que se trouve un essencier qui permet d'obtenir deux produits en même temps : l'huile essentielle concentrée à la surface, et en dessous l'hydrolat (appelé aussi eau florale de lavande ou eau de lavande), qui correspond à l'eau de distillation.

L'huile essentielle qui en est extraite par distillation est jaune très claire, presque incolore et il faut 100 Kg de fleurs de lavande pour obtenir. 1L litre d'huile essentielle.

Caractères organoleptiques : Liquide limpide, jaune pale, d'une odeur herbacée parfois un peu âcre [72].

Principaux constituants biochimiques

L'huile essentielle de lavande contient principalement des monoterpènes, dont les constituants majeurs : acétate de linalyle

(30-55%), linalol (20-35%), β -ocimène, α -terpinéol (0,3 à 1,0%), limonène (0,1 à 0,5%), cinéole (0,3 à 1,5%), camphre (0,2 à 0,3%), et sesquiterpènes (époxyde de caryophyllène). Autres constituants tel que : tanins (5 -10%), dérivés coumariniques, flavonoïdes, phytosterols, triterpènes et dérivés de l'acide rosmarinique [73].

Usage :

- ✓ **En cosmétique :** l'huile essentielle de Lavande est largement employée dans l'industrie du Parfum (savons, eaux de Cologne, lotions pour la peau, vernis, démaquillants...).

- ✓ **En thérapie :** c'est une panacée à elle toute seule, tant elle traite les maux les plus courants et les plus variés, même les plus incommodants [72].

La lavande tonifie les nerfs, calme et fait dormir ; Elle résout aussi les crampes, combat les syncopes, elle est vivifiante. Elle dirige dans de bonnes voies le sang qui monte à la tête, elle excite les activités métaboliques. Elle est précieuse, sous forme d'adjonction aux bains, dans la sciatique, la goutte et le rhumatisme [74].

I.2.4.2. Clou de girofle

Le giroflier est un arbre à feuilles persistantes ovales et coriaces. Il peut atteindre jusqu'à 20 mètres de haut. Les fleurs à 4 pétales blanc rosé sont caractérisées par leurs sépales rouges persistantes.

Avant l'épanouissement, les boutons floraux sont nommés "clous de girofle". C'est à cette époque qu'on les récolte avant de les laisser sécher jusqu'à ce qu'ils prennent une teinte brun foncé. Les fleurs jaunes sont rares puisque les boutons floraux sont cueillis avant la floraison. Les griffes sont l'ensemble des pédoncules et pédicelles floraux [75].

Taxonomie [76]

Règne : *plantae*

Sous règne : *Tracheobiontae*

Division : *Magnoliophyta*

Classe : *Magnoliopsida*

Sous classe : *Rosidae*

Ordre : *Myrtales*

Famille : *Myrtaceae*

Genre : *Syzygium*



Figure 9 : Systématique de Giroflier

L'huile essentielle de clou de girofle

Elle résulte de la distillation à la vapeur du Clou de Girofle [77].

Caractères organoleptiques : Liquide très légèrement visqueux.

Couleur: Jaune à brun foncé [77].

Odeur: épicée, caractéristique de l'Eugénol.

Principaux constituants biochimiques

Elle contient plus de 10% d'acétate d'eugényl. Le girofle contient jusqu'à 20% d'huile essentielle, son rendement atteint rarement les 15% à la distillation [77].

Usage

Elle lutte efficacement contre les maux de dents, les infections dentaires et les affections buccales, en bain de bouche, quelques gouttes dans de l'alcool et de l'eau.

Cette huile essentielle est également préconisée dans les cas de :

Sinusite, bronchite, grippe, hépatites virales, arthrite, rhumatisme

On peut l'utiliser dans des cas de gale et acné avancée.

I.2.4.3.Citron

Le citronnier est un arbre de petite taille (3 à 5m), vigoureux, affectionnant les sols non calcaires sous un climat humide et chaud.

Le fruit du citronnier est une baie cortiquée. Cet agrume de taille moyenne (5 à 10cm) est dit « limoniforme », c'est-à-dire, ovoïde et avec, à l'extrémité styloïde, un mamelon souvent cerné d'une dépression circulaire sans persistance d'aucune pièce florale [78].

Taxonomie

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Ordre : Térébenthales

Famille : Rutaceae

Genre : Citrus

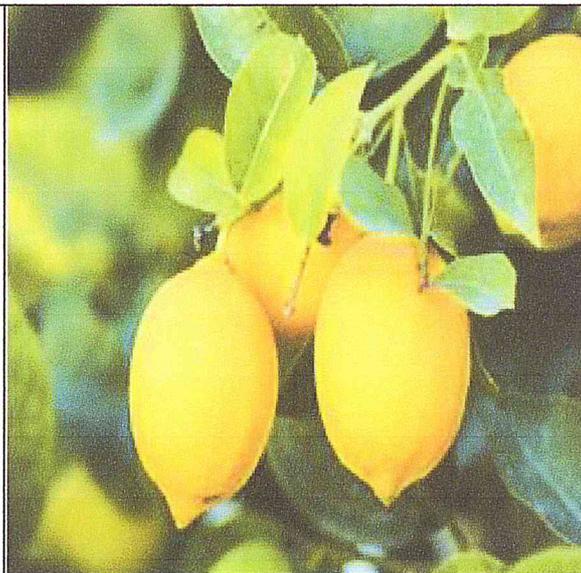


Figure 10 : Systématique de Citronnier [78].

Huile essentielle de citron

La plupart des huiles essentielles de noix, de graines et d'agrumes sont extraites par pression à froid. En général, cette méthode produit des huiles de bonne qualité. Le procédé consiste à soumettre la matière à une grande pression mécanique [79].

Caractéristiques organoleptiques : l'huile est jaune clair à verdâtre, trouble à basse température et dégage un parfum typique, frais et zesté.

Principaux constituants biochimiques : Monoterpènes (75 à 95 %) (Limonène, Pinène, Terpinène)

Usage :

Anti-infectieuse.

Carminative, digestive, lipolytique, cholérétique et laxative.

Antinauséuse.

Antiagrégant plaquettaire, fluidifiant sanguin [80].

Chapitre II : Etude Expérimentale

Chapitre II : étude expérimentale et résultats

II.1.Introduction

Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'étude des propriétés physico-chimiques des H.E commerciales et la composition chimique de ces dernières, dans le but de déterminer le degré de pureté de ces H.E.

II.2. Matériels et produits

Appareillages et équipements	Verreries
<ul style="list-style-type: none">• Réfractomètre• Plaque chauffante• Chauffe ballon• Agitateur magnétique• Rota vapeur• Plaques CCM	<ul style="list-style-type: none">• Fioles de : 10ml, 25ml, 50ml, 200ml, 250ml, 500ml.• Pycnomètre 5ml• Burette 25ml• Erlenmeyers• Bêchers• Ballon 2L• Spatules• Pipettes 2ml, 1ml, 5ml.• Pipettes pasteur• Clevenger• Ampoule à décanter
Matériel végétal et produits	
<ul style="list-style-type: none">• Clou de girofle séché• Ethanol• Hydroxyde de potassium (KOH)• Phénophtaléine• L'acide chloridrique (HCL)• Acétone• Acétate d'éthyle• Toluène• Iso-octane (triméthyle pentane)• Eugénol	<ul style="list-style-type: none">• Eau distillée• Iodure de potassium (KI)• Chloroforme• Acide acétique glacial• Chlorure de sodium (NaCl)• Déchlorométhane• Cyclohexane• Citral• Linalol• Limonéne

II.3. Huiles essentielles choisies

Dans cette étude, nous avons considéré des huiles E commerciales de citron de marque, « Hawag », « Hemani » et « El Captain », de lavande de marque « Hawag », de clous de girofle de marque « Hawag ». Nous avons acheté des huiles essentielles authentiques, obtenues par entraînement à la vapeur, de citron et de lavande de marque BIO extraction.

L'HE de Clous de girofle a été préparé au laboratoire par hydrodistillation par Clevenger. Pour interpréter les résultats obtenus, nous avons analysé l'huile végétale (tournesol).

II.4.Extraction de l'huile essentielle de Clou de girofle

II.4.1.Protocole d'extraction

L'hydrodistillation est la technique de référence dans l'étude des composés volatiles d'une plante.

On a introduit 60 g de masse végétale séchée et broyée (Figure 11) dans un ballon Bicol de 2000mL en verre (Figure 12), on a ajouté une quantité suffisante d'eau distillée environ 690mL sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition.



Figure 11 : Broyage des clous de girofle



Figure 12 : Extraction par Clevenger

Ensuite le mélange est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon, les vapeurs chargées d'huile essentielle sont passés à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée.

L'opération d'extraction dure trois heures à partir du début d'ébullition. Il est en général formé de 2 liquides non miscibles encore appelés phase, la phase aqueuse, la plus abondante, est constituée d'eau dans laquelle sont dissoutes très peu d'espèces odorantes, la phase organique (l'huile essentielle) est constituée des espèces odorantes.

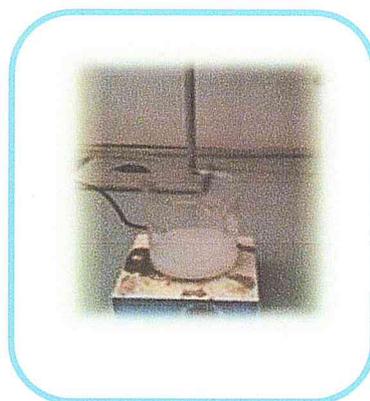
II.4.2. Relargage :

La phase organique contient la plus grande partie des composés odorants et la phase aqueuse, en contient un peu moins. Afin de récupérer cette quantité un procédé bien précis est utilisé. Au mélange précédent on a ajouté 4g de NaCl(fig,13,A), on a met le mélange par la suite sous agitation (Fig,13,B) jusqu'à la dissolution. La solubilité de l'huile essentielle du clou de girofle étant moins importante dans l'eau salée que dans l'eau, l'ajout du chlorure de sodium favorise la séparation des 2 phases.

Notre huile essentielle est très soluble dans le dichlorométhane, c'est pourquoi dans une ampoule à décanter on a versé 15ml du dichlorométhane et tout en agitant sans oublier de dégazer. Ensuite, on a laissé décanter afin de récupérer à la fin l'huile essentielle dans le solvant.



(A) : Mesure de NaCl



(B): Agitation

Figure 13 : Relargage

Elimination du solvant par rotavapeur et récupération de l'huile essentielle pure de Clou de girofle.

II.5. Préparation des solutions

On a pesé 0.5g de l'huile essentielle authentique dans une fiole de 10ml, puis on a complété le volume jusqu'à le trait de jauge par l'éthanol absolu (figure 14).

On note les masses suivantes :

- la masse de la fiole vide.
- masse de la fiole remplie de l'huile.

➤ masse de la fiole remplie d'huile et de l'éthanol

On a appliqué le même protocole pour toutes les marques d'huile (Figure 15).



Figure 14 : Solutions des huiles essentielles authentiques



Figure 15 : Solutions des huiles essentielles commerciales

II.6. Analyse physico-chimique

II.6.1. Mesure des indices physiques

II.6.1.1. Détermination de la densité

✓ Protocole expérimental

Connaissant le volume du pycnomètre utilisé au début qui est égale à 5.523 ml. On a pesé le pycnomètre à vide à l'aide d'une balance analytique, puis on l'a pesé remplie avec l'éthanol. Ensuite, on a mesuré sa masse. On a calculé la masse volumique de l'éthanol. Ensuite, on a rempli le pycnomètre avec la solution préparée (voir section II.5). On a pesé la masse du mélange et on l'a divisé par le volume du mélange pour calculer sa masse volumique. Enfin, On a calculée la suite la masse volumique de l'huile essentielle selon la formule suivante :

$$\rho_{HE} = \rho_m - \rho_{Eth} \times \left(\frac{m_{Eth}}{m_{Eth} + m_{HE}} \right) \times \frac{m_{HE} + m_{Eth}}{m_{HE}}$$

La mesure a été effectuée en utilisant un Pycnomètre ISOLAB, Laborgeräte GmbH, Wertheim, Germany.

II.6.1.2. Détermination de l'indice de réfraction

La mesure a été réalisée en utilisant un réfractomètre

✓ Protocole expérimental

On dépose quelques gouttes de l'échantillon entre les deux faces du prisme du réfractomètre. On ajuste la ligne de séparation à l'intersection du réticule, en agissant sur le bouton moleté. Il suffit de regarder après dans l'oculaire et de lire la valeur de l'indice de réfraction sur l'échelle. Il est important de relever la température correspondante à cette mesure (dans notre cas c'est la température ambiante).

La mesure a été effectuée en utilisant un réfractomètre type A.KRUSS OPTRONIC, AR 2008, Hamburg, Germany.

II.6.2. Mesure des indices chimiques

II.6.2.1. Détermination de l'indice d'acide :

L'indice d'acide (IA) est calculé par la relation suivante :

$$IA = V \times C \times 56,11 / m$$

- *IA*: Indice d'acide.
- *V*: Volume, en ml, de solution de KOH utilisé pour le titrage.
- *C*: Concentration exacte, en moles par litres, de la solution de KOH.
- *m*: Masse, en grammes, de l'huile essentielle.

✓ Protocole expérimental

On introduit dans un erlenmeyer de 500ml, on a introduit 2.38g de KOH et on a versé de l'éthanol (96%). Pour la dissolution, le mélange est soumis sous une agitation et chauffage magnétique pendant 15min puis on a fait une dilution de 10fois avec de l'éthanol.

On a prélevé 10ml de la solution mère qu'on la versé dans une fiole de 100ml et on a complété avec l'éthanol jusqu'à trait de jauge, ensuite on a introduit une solution huileuse : 1g d'huile dans 20ml d'éthanol.

Préparation de phénophtaléine en solution : 0.1g de phénophtaléine dans 10ml d'éthanol.

- **Dosage :**

On a remplie la burette avec la solution de KOH alcoolique [0.1M], on a devisé la solution huileuse en trois pour effectuer trois essais ($v=6.6\text{ml}$) et on a ajouté 2 gouttes de phénophtaléine à chaque essai.

Les solutions huileuses obtenues ont été dosées avec la solution de KOH éthanolique et on a noté le volume équivalent.

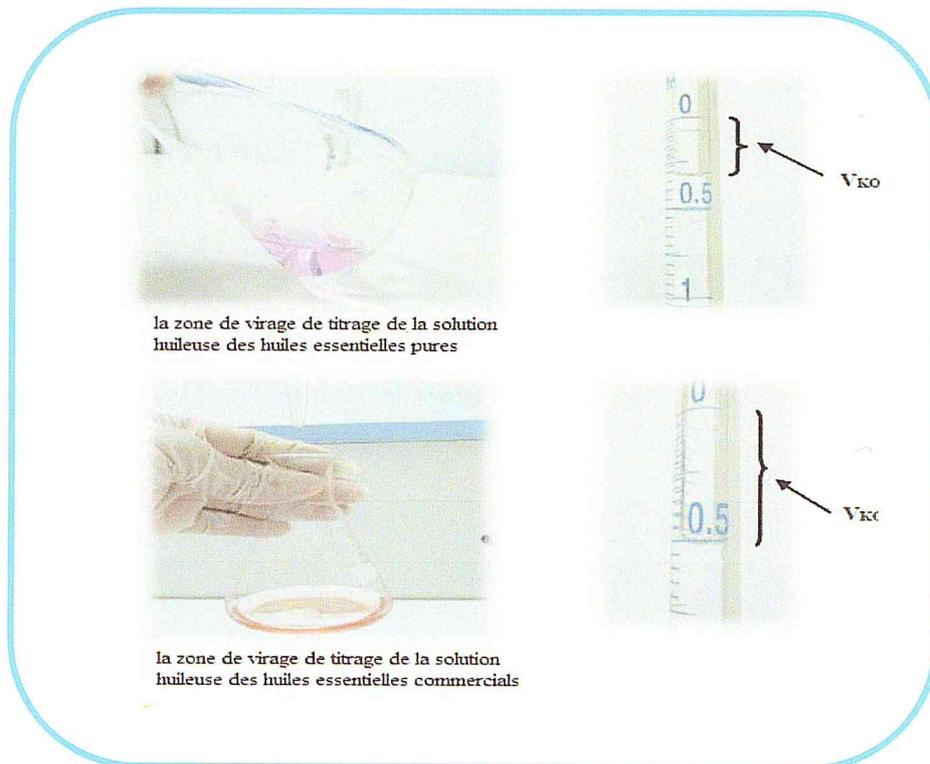


Figure 16 : Dosage des solutions huileuses

II.6.2.2. Détermination de l'indice de saponification

➤ **Protocole expérimental**

Préparation de la solution d'huile :

Les huiles étant insolubles dans l'eau, il faut les dissoudre dans un solvant organique donc on a commencé par peser une masse connue de 0.5 g d'huile dans un bécher, on a ajouté à l'aide d'une pipette graduée 10ml d'éthanol et on a agité pour dissoudre l'huile.

Détermination de l'indice de saponification :

Dans un bécher, on a introduit 10 ml de solution huileuse et on a ajouté 10 mL de solution de potasse alcoolique de concentration $0,1 \text{ molL}^{-1}$.

On a ajouté 10ml d'éthanol pour éviter l'évaporation d'éthanol de la solution huileuse puis le mélange a été porté à l'ébullition le mélange pendant 30 minutes ensuite, on a laissé refroidir à température ambiante pendant 10 minutes ensuite on a divisé le volume de la solution obtenue par en 5 volumes, on a ajouté 4 gouttes de phénolphtaléine pour chaque volume.

L'excès de potasse a été dosé par l'acide chlorhydrique (37%) de concentration $0,5 \text{ molL}^{-1}$ en agitant constamment jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine.

- ✓ Ce protocole a été réalisé pour toutes les huiles : H.E commerciales de citron (hawag, Hemani, Captain) de lavande (hawag) et de Clou de girofle (hawag) ainsi que les huiles essentielles authentiques.
- ✓ On a noté les volumes équivalents.

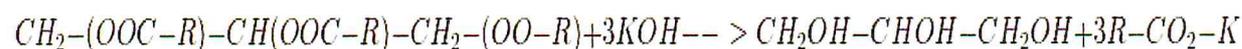
Réalisation des témoins :

Comme la concentration de la potasse alcoolique n'est pas exactement connue, il est nécessaire de la déterminer par un témoin.

On a introduit dans un bécher 10 mL de potasse alcoolique et 10 mL d'éthanol et on a traité le témoin dans les mêmes conditions opératoires que les essais.

Ensuite on a ajouté 4 gouttes de phénolphtaléine et on a dosé jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine.

Équation de la réaction :



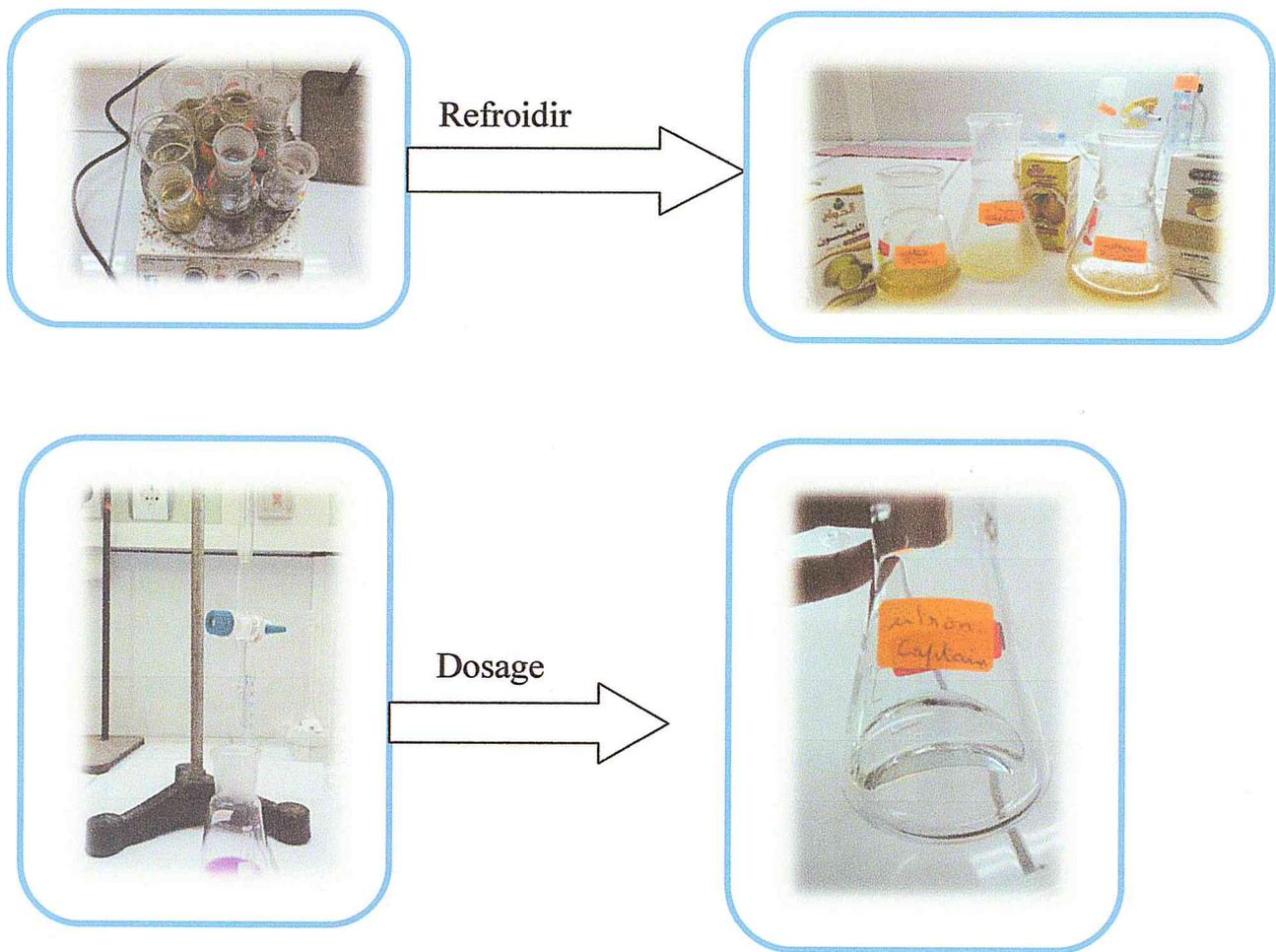


Figure 17 : Saponification des solutions huileuses avec dosage

Calcul de l'indice de saponification :

$$IS = \frac{(VT - VE) \times C_{HCl} \times M_{KOH}}{m}$$

D'où :

Is : indice de saponification

VT : volume versé au témoin (en ml)

VE : volume versé à l'essai (en ml)

C_{HCl} : concentration de la solution titrée d'acide chloridrique (en mol/l)

56.1 : masse molaire de KOH (g/mol)

M : masse de corps gras analysée (en g)

II.7. Analyse chromatographique

L'enjeu dans cette étude est d'utiliser une méthode d'analyse simple rapide, non coûteuse et au même temps fiable. Nous avons pensé à utiliser la CCM.

II.7.1. Préparation des plaques CCM

- On a découpé une plaque aux dimensions 10 cm × 11 cm.
- On a tracé au crayon un trait à 1 cm du bas de la plaque.
- Sur ce trait on a tracé 4 petits points à 1 cm de distance où seront déposées les taches (figure 18).

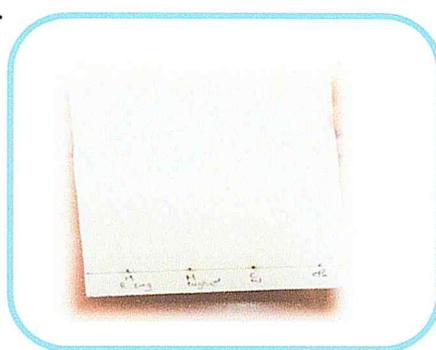


Figure 18: Préparation de la plaque CCM et dépôt des échantillons

II.7.2. Préparation de la cuve

- Après plusieurs essais de mélanges d'éluant, on est arrivé à optimiser le mélange d'éluant en respectant les proportions suivantes : 80% iso-octane (TMP) et 20% acétate d'éthyle.
- On a rempli la cuve avec l'éluant de sorte à avoir un demi-centimètre de hauteur de liquide.
- On a fermé la cuve afin de la saturer en vapeur d'éluant (la plaque est alors placée dans un environnement homogène).

II.7.3. Dépôts des échantillons dilués

Chaque échantillon à analyser a été dilué s'il est liquide dans un l'éluant qu'on a déjà préparé. Les dépôts sont réalisés à l'aide d'un tube capillaire, placé perpendiculairement à la plaque de silice (figure 18).

- **Huiles essentielles commerciales** : 1 goutte de l'huile dans 3 gouttes d'éluant.
- **Huiles essentielles authentiques** : 1 goutte de l'huile dans 5 gouttes d'éluant.
- **Produits majoritaires**: 1 goutte de produit dans 5 gouttes d'éluant.

II.7.4. Introduction dans la cuve et élution

- On a introduit la plaque verticalement dans la cuve à l'aide d'une pince pour éviter de toucher la plaque avec les doigts. Seul le bas de la plaque, en dessous de la ligne de dépôt, plonge dans le liquide (figure 19).
- Lorsque le front de l'éluant arrive à environ 1 cm du haut de la plaque, on l'a retiré de la cuve et par un crayon on a immédiatement tracé ce front et on a séché la plaque (l'éluant s'évapore).



Figure 19 : Elution des échantillons

II.7.5. Révélation

- Pulvérisation des plaques CCM avec les vapeurs de l'acide sulfurique concentré sous la hotte.
- Chauffage des plaques à l'aide d'une plaque chauffante jusqu'à l'apparitions des taches colorées (figure 20).

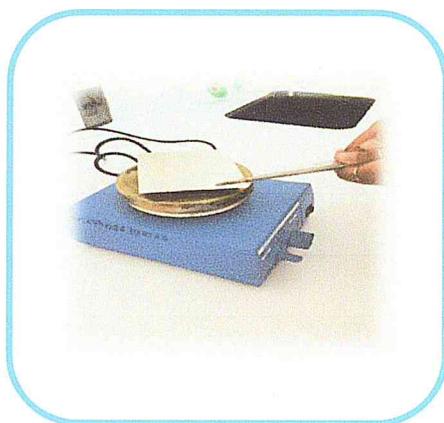


Figure 20 : chauffage de la plaque CCM

II.8. Analyse de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles commerciales et authentiques de Citron, Lavande et Clou de girofle sont réalisées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-SM).

La technique GC-MS permet d'analyser les mélanges complexes de composés qui existent à de faibles concentrations avec un grand détail.

L'analyse qualitative de la composition chimique de l'huile essentielle extraite par hydrodistillation a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse « CG-SM » (figure 21). L'identification des différents composés est effectuée en se basant sur les banques de données spectrales Wiley 7n, NBS 75k.l. et Demol (comprenant, respectivement, des spectres de masse de 250000 et 75000 molécules), avec un taux de similitude supérieure ou égal à 90%.

Condition opératoire

L'analyse est effectuée sur un chromatographe en phase gazeuse de marque couplée à un spectromètre de masse, dans les conditions suivantes :

- ✓ Une colonne capillaire de type HP5 (5% phénylméthylsilicone et 95% polydiméthylsiloxane), de longueur 30m d'un diamètre interne de 0.25 mm et une épaisseur du film de 0.25 µm.
- ✓ un gaz vecteur (hélium) d'un débit de 0.3 ml/mn.
- ✓ Un potentiel d'ionisation du spectromètre de masse égale a 70 eV.
- ✓ La programmation du four est : 50°C (3') - 5°/mn (20') - 150°C (7') - 14°/mn - 250°C (10') isotherme (40 min).
- ✓ Injection d'une quantité de 1 µl en mode Split : 1/90.
- ✓ Les échantillons des huiles essentielles sont injectés à l'état pur.

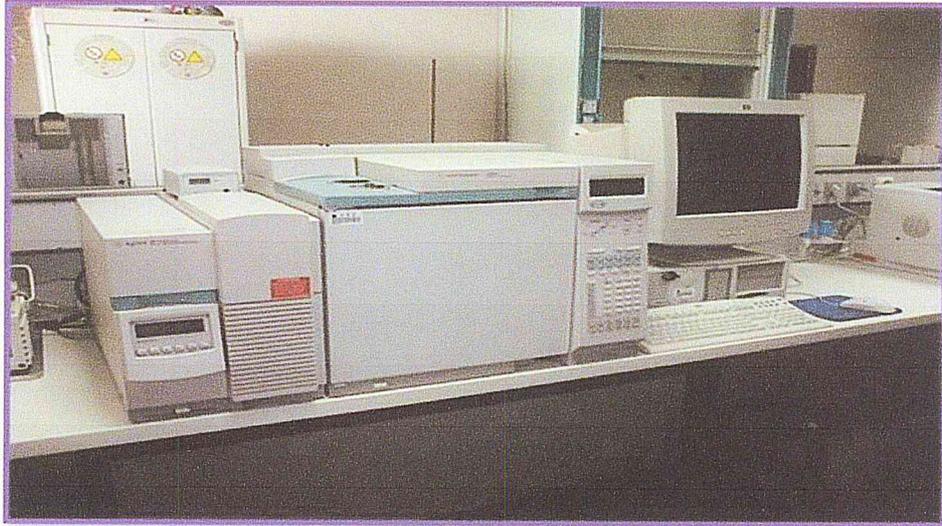


Figure 21 : Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectroscopie de masse

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultats et Discussions

III.1. Rendement en huile essentielle de clous de girofle

- Dans le but d'obtenir une quantité d'huile essentielle suffisante pour effectuer toutes les analyses physico-chimiques, nous avons réalisé l'extraction de l'huile essentielle de clous de Girofle Par hydrodistillation (HD) en utilisant Clevenger.

H.E Clou de girofle extraite par clevenger	Rendement expérimentale	Rendement théorique
	4.2	3.5 à 5

Le rendement en huile essentielle est estimé par le rapport des masses d'huile essentielle et de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pour cent (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m \text{ expérimentale}}{m \text{ théorique}} \times 100$$

$$R = \frac{2.52}{60} \times 100$$

$$R = 4.2 \%$$

III.2. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles considérées

Les huiles essentielles utilisées dans le présent travail présentent les caractères organoleptiques regroupés dans le tableau 2.

Tableau 2 : Propriétés organoleptiques des HE

L'huile essentielle	Odeur	aspect	La couleur
Citron authentique	frais et zesté	Liquide légèrement visqueux	Jaune claire
Citron Hawag	Faible	Liquide visqueux	Jaune vert
Citron Hemani	Piquante	Légèrement visqueux	Jaune claire
Citron Captain	Piquante	Légèrement visqueux	Jaune vert
Lavande authentique	Lavandée et légèrement camphrée	Liquide limpide	Jaune pâle
Lavande Hawag	Très faible	Liquide visqueux	Jaune vert
Clous de girofle authentique	Epicée typique de l'eugénol	Liquide plus au moins visqueux	Jaune à jaune clair
Clous de girofle Hawag	Plus ou moins piquante	Très visqueux	Jaune vert

III.3. Indices physico-chimiques

III.3.1. Indices chimiques

Les résultats des analyses physicochimiques des différentes huiles essentielles sont regroupés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 3 : Indices chimiques

Huile essentielle	Indice chimique					
	Indice d'acide		Indice de saponification		Indice d'ester	
	Expr	Théo [81-82]	Expr	Théo [81-82]	Expr	Théo [81-82]
C. auth	-	-	14.45	-	12.46	13.48 à 15.9
C.Hawag	-		87.01		86.3592	
C. Hemani	-		77.60		76.66	
C. Captain	-		51.03		50.7158	
Lv.auth	1.01	0.923 à	81.00	-	97.99	78.178 à 137
Lv. Hawag	5.0027	1	152.38		147.3773	
CG.auth	1.045	-	75.39	-	74.345	-
CG.Hawag	7.6646		172.12		164.4554	
H.vég	3.9	2.2 à 7.26	19.2	189 à 196	188.1	186 à 188

C : citron ; LV : lavande ; CG : clou de girofle ; H vég : huile végétale

Auth* : authentique ;Expr* : valeur expérimentale ;théo* : valeur théorique

D'après le tableau 3, on peut constater que :

➤ **L'indice d'acide**

Il permet de vérifier la qualité d'une huile essentielle ; notamment en ce qui concerne sa dégradation avec le temps durant le stockage.

Cette méthode convient pour toutes les huiles essentielles sauf pour celles qui sont riches en lactone tel que l'huile essentielle de citron (citronellène) camphre de citron : réunion de différents corps ; un sel organique infusible et une partie hétérogène fusible [1].

Plus cet indice est grand plus l'huile essentielle est dégradée. Pour les deux huiles essentielles lavande et clous de girofle les valeurs concordent avec les données de la littérature.

➤ **L'indice de saponification**

La détermination de l'indice de saponification des huiles a donné les résultats enregistrés dans le tableau 4 qui montre que l'huile essentielle authentique de lavande présente l'indice le plus élevé par contre le clou de girofle marque l'indice le plus faible. Par contre les huiles essentielles commerciales montrent l'indice de saponification le plus important chez les huiles essentielles de clous de girofle et le plus faible chez les huiles essentielles de citron.

➤ L'indice d'ester

Les valeurs d'indice d'ester sont proches des valeurs théoriques.

III.3.2. Indices physiques

a-La densité

Le tableau 4 représente les résultats de la densité des huiles essentielles

Tableau 4 : Densité des HE testées

L'huile	La densité expérimentale (g/ml)	La densité théorique (g/ml) [81-82]
Citron bio extraction pur	0.866	0.845 à 0.858
Citron El Hawag	0.907	
Citron Hemani	0.898	
Citron Captain	0.830	
Lavande bio extraction pur	0.8800	0.8826 à 0.9391
Lavande El Hawag	0.8588	
Clou de girofle pur	1.0212	1.042 à 1.059
Clou de girofle El Hawag	0.8028	
Huile Végétale	0.9114	0.916 à 0.920

On a calculé la densité à partir de la densité mesurée par cette relation :

$$\rho_{HE} = \rho_m - \rho_{Eth} \times \left(\frac{m_{Eth}}{m_{Eth} + m_{HE}} \right) \times \frac{m_{HE} + m_{Eth}}{m_{HE}}$$

Ou : ρ : densité

ρ_m : densité de mélange

ρ_{Eth} : densité d'éthanol

m_{Eth} : masse d'éthanol

m_{HE} : masse de l'huile essentielle

La densité des trois huiles essentielles authentiques (citron, girofle, lavande) est dans les normes Des valeurs théoriques AFNOR2000 ; par contre les valeurs de deux marques citron (Hawag et Hemani) sont élevées par rapport à l'huile authentique, elles sont proches de celle de l'huile végétale.

D'autre part les valeurs de la densité du citron Captain et lavande Hawag et clous de girofle Hawag sont inférieure à la valeur de densité des huiles authentiques et loin de la valeur de l'huile végétale.

b-Indice de réfraction

Les résultats des mesures et de calcul de l'indice de réfraction des huiles essentielles sont présentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : Indice de réfraction

Huile	Ir expérimentale	Ir expérimentale à 20°C	IR théorique à 20°C [81-82]
Citron bio extraction	1.4646 à 20.1°C	1.464645	1.470 à 1.480
Citron Hawag	1.4669 à 19.6°C	1.46708	
Citron Hemani	1.4662 à 19.6°C	1.46638	
Citron El Captain	1.4529 à 19.7°C	1.45303	
Lavande bio extraction	1.4509 à 21.1°C	1.450945	1.4570 à 1.4670
Lavande Hawag	1.4654 à 19.4°C	1.46567	
Clou de girofle bio extraction	1.5215 à 20.1°C	1.521545	1.528 à 1.538
Clou de girofle Hawag	1.4669 à 18.9°C	1.467395	
Végétale	1.452 à 20°C	1.452	1.463 à 1.478

L'indice de réfraction à partir de l'indice de réfraction mesuré en utilisant la relation suivante:

$$n_{HE} = nm - n_{Eth} \times \left(\frac{m_{Eth}}{m_{Eth} + m_{HE}} \right) \times \frac{m_{HE} + m_{Eth}}{m_{HE}}$$

où :

n_{HE} : l'indice de réfraction de l'huile essentielle

nm : indice de réfraction de mélange

m_{Eth} : masse d'éthanol

m_{HE} : masse de l'huile essentielle.

D'après les résultats d'analyse des indices de réfraction dans le cas des l'huiles essentielles authentiques et commerciales des deux huiles de citron et de lavande, on constate que ces dernières sont proches des valeurs théoriques. Par contre, dans le cas de l'huile essentielle de clous de girofle, l'huile essentielle authentique présente un indice de réfraction identique à la valeur théorique, mais celui de l'huile essentielle commerciale est très faible.

III.4. Chromatographie sur couches minces (CCM)

Les résultats d'analyse par CCM sont présentés dans les figures 22-24

➤ CCM de l'HE de lavande

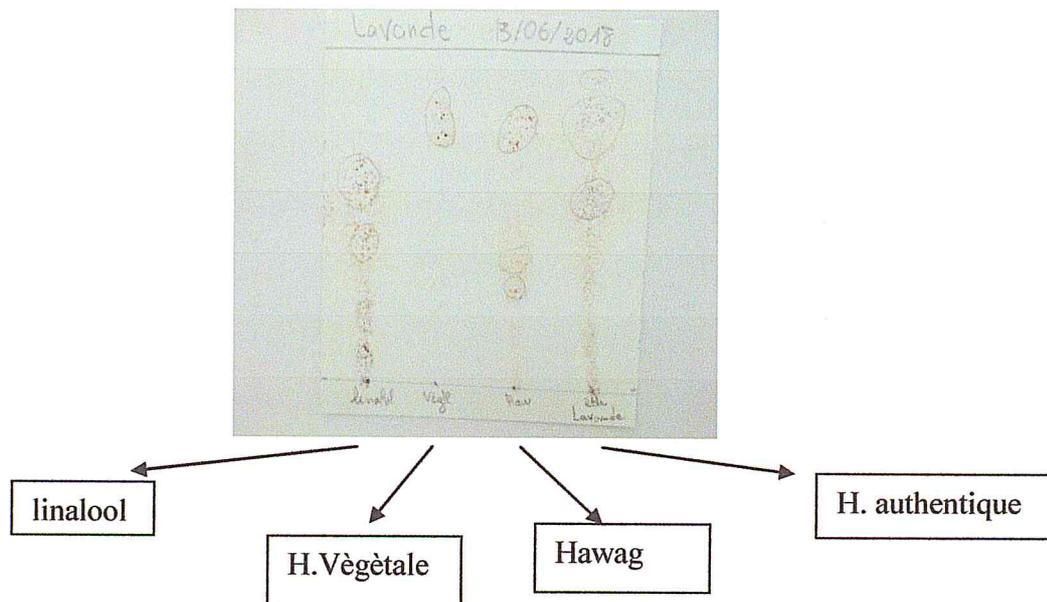


Figure 22 : Plaque CCM de l'H.E de lavande

La plaque CCM montre la présence d'une tache au même niveau pour l'huile végétal, et l'huile essentielle commerciale de lavande Marque : Hawag.

Ce qui nous a amené à conclure que cette dernière contient de l'huile végétal.

La plaque CCM ne montre aucune tache de même niveau pour l'huile essentielle commerciale de lavande et l'huile essentielle de lavande authentique (figure 22).

➤ CCM de l'HE de Clou de girofle

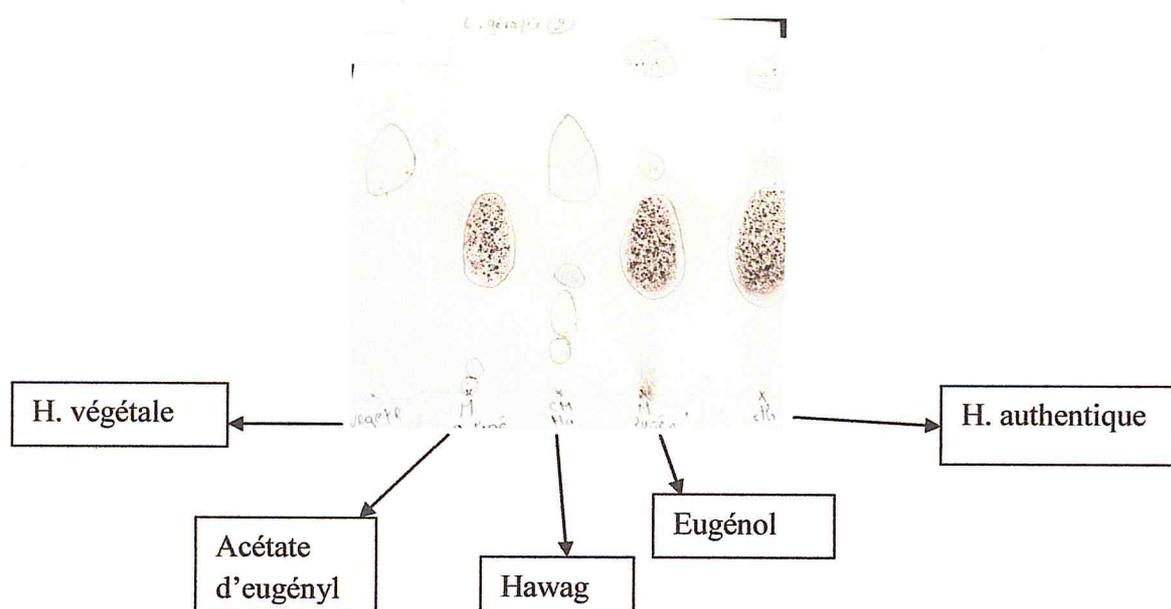


Figure 23 : plaque CCM de l'H.E Clou de girofle

La plaque montre que l'HE commerciale présente une tache au même niveau que celle de l'huile végétale, ce qui confirme que les deux huiles contiennent le même composé qui est probablement l'acide oléique.

On remarque aussi qu'il n'y a aucune tache commune entre l'H.E authentique et H.E commerciale de Clou de girofle (figure 23).

L'HE authentique présente une tache au même niveau que les étalons (Eugénol et acétate d'eugényle).

➤ CCM de l'HE de Citron

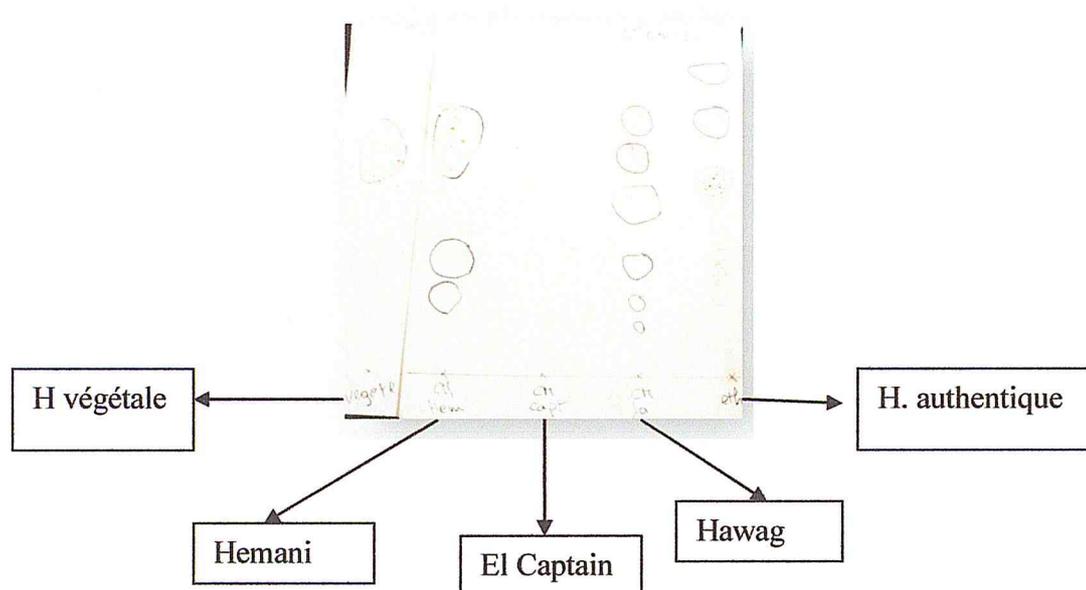


Figure 24 : plaque CCM de l'H.E de Citron

Les deux HE commerciales Hemani et Hawag présente une tache au même niveau de celle de l'huile végétale. Ceci confirme que les huiles commerciales contiennent de l'huile végétale.

Malgré que l'HE commerciale El captain a été utilisé déposé sur la plaque à l'état pur, elle n'a donné aucune tache.

L'HE « Hawag » montre une tache au même niveau que l'HE authentique de Citron (figure 24).

III.5. Etude analytique des l'huiles essentielles par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Les différentes huiles essentielles ont fait l'objet d'une analyse chromatographique par CG/SM.

L'analyse par CG/SM dans les conditions citées auparavant (page 38) ont permis l'identification des composés regroupés dans les tableaux 6 - 13. Les profils chromatographiques sont présentés sur les figures 1-8 (voir annexe).

III.5.1. Huile essentielle de Citron :

Tableau 6 : Composition chimique de l'huile essentielle de citron Captain analysée par GC/MS

N°	T _r (min)	Nom du composé	Formule	% Aire
1	7.74	α -pinène	C ₁₀ H ₁₆	0.10
2	9.24	β -pinène	C ₁₀ H ₁₆	0.40
3	11.08	D-Limonène	C ₁₀ H ₁₆	2.19
4	12.12	1,4-Cyclohexadiène-4-(1-méthyléthyl)	C ₁₀ H ₁₆	0.15
5	17.95	2,6diméthyl-3,7 Octadienal(Z)	C ₁₀ H ₁₆ O	0.03
6	18.84	2,6diméthyl-3,7 Octadienal(E)	C ₁₀ H ₁₆ O	0.05
7	30.28	Acide hexadécanoïque	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2.57
8	32.02	Acide oleique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	16.15
9	36.56	Acide octadéca9,12-dienoïque(Z,Z)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	1.51

Tableau 7: Composition chimique de l'huile essentielle de citron Hemani analysée par GC/MS

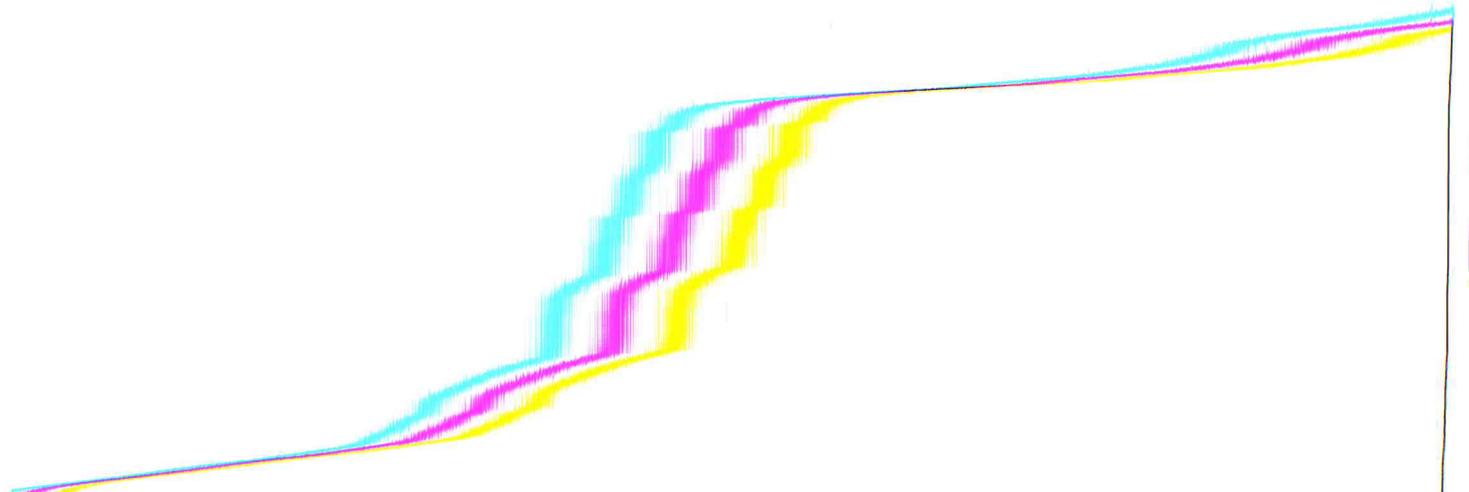
N°	tr (min)	Nom du composé	Formule	%Aire
1	11.07	D-limonène	C ₁₀ H ₁₆	0.55
2	30.26	Acide hexadécanoïque	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	8.55
3	31.95	Cis9Cis12 acide octadécanoïque	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	33.57
4	31.99	Acide oleique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	23.06
5	32.15	Acide octadécanoïque	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	8.66

Tableau 8 : Composition chimique de l'huile essentielle de citron Hawag analysée par GC/MS

N°	Tr (min)	Nom du composé	Formule	% Aire
1	9.77	β -myrcène	C ₁₀ H ₁₆	0.23
2	11.07	D limonène	C ₁₀ H ₁₆	15.09
3	16.50	+/-,-, α -méthyl benzyl acétate	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	5.10
4	17.95	Cis citral	C ₁₀ H ₁₆ O	3.38
5	18.84	Trans citral	C ₁₀ H ₁₆ O	5.29
6	19.52	2,4-decadienal(E,E)	C ₁₀ H ₁₆ O	0.42
7	29.95	(E,E)-7,11,15-triméthyl-hexadeca- 1,6,10,14-tétraène	C ₂₀ H ₃₂	1.52
8	30.24	Acide hexadécanoïque	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	2.24
9	31.86	9cis,12cis acide octadécadiénoïque	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	14.97
10	31.89	Acide oleique	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	12.07
11	35.48	Acide 2-[(2-butylcyclopropyl)méthyl] cyclopropanonanoïque	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	4.06
12	-	Composé non identifié	-	11.60

Tableau 9 : Composition chimique de l'huile essentielle authentique de citron analysée par GC/MS

N°	T _r (min)	Nom du composé	Formule	% Aire
1	7.52	Thujène	C ₁₀ H ₁₆	0.23
2	7.76	α -pinène	C ₁₀ H ₁₆	2.22
3	8.27	Camphène	C ₁₀ H ₁₆	0.16
4	9.41	B-Pinène	C ₁₀ H ₁₆	7.45
5	9.65	Sulcatone	C ₈ H ₁₄ O	0.63
6	9.81	β -myrcène	C ₁₀ H ₁₆	1.02
7	11.81	3-carène	C ₁₀ H ₁₆	2.20
8	11.41	D-limonène	C ₁₀ H ₁₆	13.31
9	13.13	Terpinolène	C ₁₀ H ₁₆	0.27
10	13.53	Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	1.81
11	13.63	Nonanal	C ₉ H ₁₈ O	0.23
12	15.23	R+ Citronellal	C ₁₀ H ₁₈ O	1.05
13	16.05	Terpinén 4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.92
14	16.49	Linalyl propanoate	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	1.15
15	17.78	Cis géranol	C ₁₀ H ₁₈ O	6.26
16	19.04	Citral	C ₁₀ H ₁₈ O	7.14
17	18.55	Trans géranol	C ₁₀ H ₁₈ O	2.93
18	21.26	Citronellyl propanoate	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	1.12
19	21.71	Nerol acétate (Z)	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	5.64
20	22.18	Nerol acétate (E)	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.48
21	23.33	Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	1.92
22	23.61	α -bergamotène	C ₁₅ H ₂₄	0.71
23	24.11	α -caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	0.42
24	25.11	β -bisabolène	C ₁₅ H ₂₄	0.95



25	26.44	Oxide de Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄ O	1.38
26	26.35	(-)-spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.57
27	27.69	α-bisabolol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.18
28	30.25	Acide hexadécanoïque	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.51
29	39.58	Acide ,2[(2-butylcyclopropyl)methyl]-, cyclopropanenonanoïque	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	0.15

En comparant le taux de limonène dans l'huile authentique de citron (13.31%) avec la valeur théorique, on constate que cette dernière est nettement plus élevée (60-73%) Cet écart est dû probablement à la dégradation suite au vieillissement de l'huile.

On procède de la même façon pour les huiles commerciales citron captain, citron Hemani, citron Hawag dont les taux en limonène sont respectivement 3.12 ;0.55 ;et 15.09. Dans les deux premières huiles les taux trouvés sont faibles ceci peut s'expliquer par l'ajout d'une quantité minimale d'huile essentielle pure à ces huiles .Pour la troisième huile, avec un taux de 15.09% il est possible qu'une quantité de limonène supplémentaire a été rajoutée. Dans le même ordre d'idées, on compare les taux d'acides gras dans huiles essentielles analysées (l'authentique avec les trois huiles commerciales : citron Captain, citron Hemani, citron Hawag).les résultats montrent que les taux d'acides gras sont respectivement 0.6% ;20.23 ;73.84% ;31.1%.on remarque que dans les huiles commerciales les taux d'acide gras sont trop élevée, par rapport à l'huile essentielle authentique .ce qui est probablement dû à l'addition d'huiles végétales.

III.5.2. Huile essentielle de Lavande :

Tableau 10 : Composition chimique de l'huile essentielle de Lavande Hawag analysée par GC/MS

N°	t _r (min)	Nom de composé	Formule	% Air
1	30.25	Acide hexadécanoïque	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	8.28
2	31.94	9Cis 12Cis acide octadécadienoïque (Z,Z)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	58.74
			C ₁₈ H ₃₆ O ₂	9.98

Tableau 11 : Composition chimique de l'huile essentielle de Lavande authentique analysée par GC/MS

N°	t _r (min)	Nom du composé	Formule	% Aire
1	7.52	3-Thujène+	C ₁₀ H ₁₆	0.14
2	5.75	α-Pinène	C ₁₀ H ₁₆	1.05
3	8.26	Camphène	C ₁₀ H ₁₆	1.05
4	9.25	β-pinène	C ₁₀ H ₁₆	1.60
5	9.15	-Sabinène	C ₁₀ H ₁₆	0.20
6	9.78	β-myrcène	C ₁₀ H ₁₆	3.23
7	11.77	3-caréne	C ₁₀ H ₁₆	0.86
8	10.97	p-Cymène e	C ₁₀ H ₁₄	0.80
9	11.26	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	5.31
10	11.44	Trans β-ocimene	C ₁₀ H ₁₆	1.53
11	12.12	γ-terpinène	C ₁₀ H ₁₆	0.04
13	13.06	Cis- oxide de linalol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.97
14		Cyclopropane,1-methyl-2-(1-méthyléthyl)-3-(1-méthylethylidene)-,cis	C ₁₀ H ₁₈	0.97
15	13.68	Linalol	C ₁₀ H ₁₈ O	6.08
16	15.04	Camphre	C ₁₀ H ₁₆ O	1.07
17	15.43	Isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.11
18	16.15	Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	2.94
19	16.37	2-cyclohexen-1-one,4-(1-méthyléthyl)	C ₉ H ₁₄ O	0.47
20	16.57	Linalyl propanoate	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	3.38
21	16.74	γ-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	1.41
22	18.72	Carvotanacetone	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	12.60
23	19.60	Cuminylacétate	C ₁₀ H ₁₄ O	0.14
24	21.22	α-terpineol	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.05
25	22.09	Acétate de géranyl	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.86
26	23.33	Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	3.21
27	24.67	β-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	0.56
28	24.79	α-Guajene	C ₁₅ H ₂₄	0.66
29	25.27	γ-muurolene	C ₁₅ H ₂₄	0.84
30	25.09	β-bisabolene	C ₁₅ H ₂₄	0.28
31	25.42	Calamenene	C ₁₅ H ₂₂	0.64
32	26.43	oxide de Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ O	2.04
33	27.35	γ-Eudesmol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.32
34	31.45	Dehydroabietan	C ₂₀ H ₃₀	4.29
35	24.03	Composés non identifiés	-	2.51

L'huile essentielle authentique contient exclusivement des terpènes, leur teneur est faible comparativement aux valeurs théoriques [84]. le terpène majoritaire est la carvotanacétone(12.60%). par contre, l'huile essentielle commerciale (Hawag) ne contient

que 3.7% molécules odorantes et renferme 87.18% d'acides gras qui peut être attribuer à l'ajout de l'huile végétale.

III.5.3. Huile essentielle de Clou de girofle :

Tableau 12 : Composition chimique de l'huile essentielle de Clou de girofle authentique analysée par GC/MS

N°	tr (min)	Nom de composé	Formule	% Aire
1	22.13	Eugénol	C ₁₅ H ₂₄	58.46
2	26.45	Oxyde de caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄ O	1.41
3	28.61	Benzoate de benzyle	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	0.17
4	30.23	Acide hexadécanoïque	C ₁₆ H ₃₆ O ₂	0.07
5	31.53	Cyclopentadécane-2-hydroxy	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	0.05
6	35.16	Acide hexanedioïque, dioctyl ester	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	1.10
7	36.21	Acide linoléique	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	1.3
8	15.78	Acide benzoïque	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.07
9	16.55	Vaniline	C ₈ H ₈ O ₃	0.62
10	17.99	4-isopropyl benzaldéhyde	C ₁₀ H ₁₂ O	0.09
11	18.35	2,6-diméthoxy-4(2-propényl) phénol	C ₉ H ₁₀ O	1.008
12	19.35	1-méthoxy-4(1-propényl) benzène	C ₁₀ H ₁₂ O	0.095
13	23.43	Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	9.222
14	23.93	2-méthoxy-4(1-propényl) phénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.084
15	24.14	α-caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	2.727
16	25.04	α-farnésène	C ₁₅ H ₂₄	0.292
17	4.30	Furfuran-2-carbaldéhyde	C ₅ H ₄ O ₂	0.054
18	6.22	2-heptenone	C ₇ H ₁₄ O	0.049
19	8.66	Benzaldehyde pesticide	C ₇ H ₆ O	0.021
20	10.05	Acide hexanoïque	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.019
21	11.06	D-limonène	C ₁₀ H ₁₆	0.043
22	11.14	Eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.028
23	11.22	Alcool benzylique	C ₇ H ₈ O	0.039
24	12.33	Acétophénone	C ₈ H ₈ O	0.028
25	13.19	2-nonanone	C ₉ H ₁₈ O	0.086
26	13.30	Acide benzoïque	C ₈ H ₁₈ O ₂	0.041
27	13.45	Géraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.061
28	14.94	Camphre	C ₁₀ H ₁₆ O	0.035
29	15.56	Acide acétique	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.095
30	25.41	Acétate d'eugényle	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	11.8

Tableau 13 : Composition chimique de l'huile essentielle de clou de girofle Hawag analysée par GC/MS

N°	t _r (min)	Nom du composé	formule	% Aire
1	21.41	Eugénol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	5.32
2	23.53	Caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄	1.32
3	26.41	Oxyde de caryophyllène	C ₁₅ H ₂₄ O	1.81
4	30.27	Acide hexadecanoïque	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	8.14
5	31.97	9cis12cis acide octadecadienoïque	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	51.16
6	32.15	Acide octadecanoïque	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	8.89
7	35.63	Glyceryl 2-myristate	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	1.61
8	35.70	Bicyclo[4,3,1]decan-10-one	C ₁₀ H ₁₆ O	1.19
9	-	Composés non identifiés	-	12.6

Le composé majoritaire de l'huile essentielle de clous de girofle authentique est l'eugénol (58.52%) suivi par le caryophyllène (12%) et l'acétate d'eugényle (11%). ces teneurs sont comparables aux valeurs théorique (57.17 ; 29.94 ; 5.93)[85-86]. Par contre dans l'huile essentielle commerciale Hawag, l'eugénol est présent avec un faible taux (5.32%) et le caryophyllène avec un taux plus bas (0.6%). néanmoins, les acides gras représentent une teneur trop élevée 68.19% ce qui peut être expliqué par l'addition de l'huile végétale.

Conclusion générale

Les huiles essentielles sont un ensemble de molécules volatiles extraites d'un végétal dont la synergie leur confère des propriétés olfactives et thérapeutiques. Leur utilisation est de plus en plus répandue de nos jours. Leur coût élevé entraîne de nombreuses fraudes afin que la marge des fournisseurs soit augmentée ou aussi pour que le prix de vente corresponde à la réalité du marché, de plus l'existence de normes restrictives, normalisant la composition moléculaire, provoque l'addition de composés normés afin que l'huile essentielle lui corresponde pour assurer de l'authenticité des huiles essentielles compte tenu des origines variétales et géographiques, il est indispensable d'avoir des bases de données les plus exhaustives possibles, composées d'échantillons authentiques, et frauduleux (commerciaux et adultérés au laboratoire).

Dans le cadre de la détermination de fraude et le contrôle de qualité de nos huiles essentielles commerciales nous nous sommes intéressés en premier lieu à vérifier les différents caractères physico-chimiques des huiles essentielles authentiques et commerciales. Parmi ces indices c'est la densité qui nous donne une idée sur la fraude et on a trouvé une probabilité de l'ajout de l'huile végétale dans certaines marques, par contre les autres indices physico-chimiques leurs valeurs expérimentales sont très proches aux valeurs théoriques de l'AFNOR2000. Ces résultats sont insuffisants pour confirmer la fraude.

Pour cette raison en second lieu, nous avons pensé à réaliser la chromatographie sur couche mince. On a considéré des plaques CCM avec un éluant universel (isooctane -acétate d'éthyle : 8:2) pour séparer les composés de notre échantillon.

Malgré que la CCM constitue une méthode simple et peu coûteuse, elle nous a permis de détecter la fraude.

Pour tester les résultats obtenus par CCM nous avons fait appel à une autre méthode d'analyse, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse à la spectroscopie de masse en mode d'ionisation par impact électronique des huiles essentielles sur une colonne apolaire et avec une programmation de température du four étudiée nous a permis de confirmer l'adultération de notre huile et préciser la composition chimique détaillée avec les pourcentages de quantité « Taux ».

❖ Pour citron

Le taux de limonène dans l'H.E authentique est faible par rapport à la valeur théorique. Cet écart est provoqué par le vieillissement de l'huile.

Pour les deux marques « Captain » et « Hemani », les taux de limonène sont faibles ce qui peut s'expliquer par l'ajout d'une petite quantité d'huile essentielle avec une quantité plus importante de l'huile végétale.

Pour la marque « Hawag », le taux de limonène est légèrement élevé par rapport aux deux marques précédentes, ce qui nous amène à penser qu'une quantité supplémentaire du limonène a été ajoutée à l'huile.

Parlant des résultats de taux des acides gras, les trois huiles marquent un taux très grand par rapport à l'huile essentielle authentique, il est dû peut être à l'ajout d'une huile végétale.

❖ Pour la lavande

Nous avons noté que le composé majoritaire (carvotanacétone) est présent en très petite quantité dans l'huile essentielle « Hawag » comparant sa teneur avec la théorie .par contre la quantité des acides gras est très grande, ça peut être attribué à l'ajout d'une huile végétale.

❖ Pour le clou de girofle

La quantité des composés majoritaires, l'eugénol (58.52%) suivi par le caryophyllène (12%) et l'acétate d'eugényle (11%), dans l'huile essentielle authentique est comparable aux valeurs théoriques. Par contre, l'huile essentielle commerciale « Hawag » présente des teneurs très faibles de ces composés, mais une teneur très élevée pour les acides gras. On peut l'expliquer par l'ajout d'une huile végétale.

Au terme de ce travail, on peut conclure que les résultats obtenus par CG/SM sont en parfaite concordance avec ceux obtenus par CCM ce qui nous amène à dire que la chromatographie sur couche mince pourra également trouver sa place dans les laboratoires de contrôle de qualité des huiles essentielles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] Baser K.H.C., Buchbauer G., Handbook of essential oils: Science, Technology, and Applications, Ed. Taylor and Francis Group, LLC. United States of America, 2010, p. 994.
- [2] Festy D., 100 Réflexes AROMATHERAPIE : Je me soigne avec les huiles essentielles, Pratiques Efficaces et Faciles, Ed Leduc. S, 2008, p. 6-20.
- [3] René Maurice G., « Aromathérapie- Les huiles essentielles hormones végétales », Librairie des sciences, Giradot &Compagnie, Paris, 1937.
- [4] Kaloustian J., Hadji- Minaglou F., La connaissance des huiles essentielles : entre sciences et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer-verlag France, Paris, 2012, p. 5-10.
- [5] Fabrocini V&C., Comment se soigner avec L'AROMATHERAPIE et guérir : agitation, anxiété, allergie, asthme, déprime, insomnie, lombalgie, mal de dos, migraines, palpitations, etc. Ed. de vecchi, 2007, p. 4-17.
- [6] Besombes C., Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro thermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées, Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, 2008, p.289.
- [7] Moro - Buronzo A., Grand guide des huiles essentielles : Santé, Beauté, Bien- Etre, HACHETTE pratique, 2008, p.14.
- [8] Belaiche P., Traité de la phytothérapie et d'aromathérapie, Tome 1, l'aromatogramme, 1979, p. 135-147, ISBN 2-224-00520-2.
- [9] Scimeca D., Les plantes du bonheur, Ed. Alpen, 2007, p.12-17.
- [10] Bruneton J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème édition, Ed. Tec & doc, 1999, p. 625-910, ISBN : 2-7430-0315-4.
- [11] Franz C., Novak J., Sources of essential oils. In: Bas, Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, 2010, p.39-82.
- [12] Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46, 446-475.
- [13] Teixeira B., Marques A., Ramos C., Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils. *Industrial Crops and Products*, 2013, 43: 587- 595.
- [14] Willem J.P., 60 maux soignés par les huiles essentielles : l'aromathérapie au quotidien pour toute la famille, Les minipockets de santé, 2009, p.7-17.
- [15] Holley A., Eloge de l'odorat, Ed. Odile Jacob, 1999, p. 276.
- [16] Nicholas H. J., Phytochemistry Organic Metabolites, Yonkers, New York, Vol. 2, 1973.
- [17] Martinetti P., Mon guide des huiles essentielles, Ed. Lanore, 2013, p.5-6, ISBN : 978285157733.
- [18] Padrini F., Leucheroni M., La nature des huiles essentielles, Ed. Dexechi, 1997, p.124.
- [19] Franchomme P., Jollois R., L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles, Ed. Jollois, 2001.
- [20] Roulier G., Les huiles essentielles pour votre santé, Ed. Dangles, 2000, p.336.
- [21] Joy Bowes E., The chemistry of Aromatherapeutic Oils, 3rd Edition, 2003, p. 56.
- [22] Viaud H., Les huiles essentielles et leur distillation. Thérapeutique naturelle, 1993, p. 924.

- [23] Lucchesi M.E., Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception Application à L'extraction des Huiles Essentielles Thèse de Doctorat, Décembre 2006, p. 16-59.
- [24] Modzelewska A., Sur S., Kumar K.S., Khan S.R., Sesquiterpenes : Natural products that decrease cancer growth. *Current Medicinal Chemistry - Anti-Cancer Agents*, 2005, 5: 477-499.
- [25] Kaloustian J., Hadji-Minaglou F., La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Springer-verlag France, Paris, 2012, p. 17,160, ISBN : 978-28178-0308.
- [26] Azevedo N.R., Campos I.F., Ferreira H.D., Prtes T.A., Santos S.C., Seraphin J.C., Paula J.R., Ferri P.H., Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochem*, 2001, 57(5) :733-736.
- [27] Basséne E., Initiation à la recherche sur les substances naturelles : Extraction-Analyse Essais Biologiques, Presses universitaires de DAKAR, 2012, p. 56-60, ISBN : 2-912184-74-X
- [28] Bruneton J., Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 4ème édition Tec & doc, 2009, p.567-592, ISBN : 978-2-7430-1188-8.
- [29] Rouessac F., Rouessac A., Brooks S., Chemical analysis: modern instrumentation methods and techniques, Ed. John Wiley and Sons, 2007, p.31.
- [30] Cserhati T., Forgacs E., Chromatography in food science and technology, CRC Press, 1999, p.1
- [31] Mendham J., Vogel A.I, Denny R.C., Toullec J., Barnes J., Barnes J.D., Mottet M., Tomas M.J.K., Analyse chimique quantitative de Vogel, Ed. De Boeck Université, 2005, p.231-314.
- [32] Burgot G., Burgot J. L., Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques électrophorèses, méthodes spectrales et méthodes thermiques, 3^{ème} Edition Tec & Doc Lavoisier, 2011, p.10, ISBN : 978-2-7430-1337-0.
- [33] Kováts E., Gas Chromatographic Characterization of Organic Substances in the Retention Index System, in *Advances in Chromatography*, Chap. 7, 1965, 229- 247.
- [34] National Institute of Standards and Technology, PC Version 1.7 of The NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library, the Perkin Elmer Corporation, 1999.
- [35] Lafferty M.C., Stauffer D.B., Wiley Registry of Mass Spectral Data, 6th ed. Mass spectrometry library search system BenchTop/PBM, version 3.10 d. Palisade Co., Newfield, 1994.
- [36] Joulain D., König WA., The Atlas of Spectral Data of Sesquiterpene Hydrocarbons, E. B.-Verlag, Hamburg, 1998.
- [37] Adams R.P., Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy, Academic Press, Inc., San Diego, 1989.
- [38] Adams R.P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy, Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, 1995.
- [39] Lafferty M.C., Stauffer D.B., The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data, 1-7, A Wiley-Interscience Publication, John Wiley & Sons, New York, 1989.
- [40] Paolini J., Caractérisation des huiles essentielles par CPG/IR, CPG/SM-(IE ET IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux astéracée endémiques de corse :

Eupatorium cannabinum subsp. *Corsicum* et *Doronicum corsicum*, Thèse de doctorat, Université de Corse 2005, p.26, 38.

[41] Nakahara K., Alzoreky N.S., Yoshihashi T., Nguyen H.T., 2003, Japan Agric Res. Quarterly, 37(4), 249-252.

[42] GASNIER, Dépôts métall, 1927, p. 151.

[43] Coentini Garrault, lundi 22 juin 2015, cours de physique et chimie, <http://www.eduonline.net/spip>.

[44] Memoire Online > Sciences, Etude bibliographique sur les huiles essentielles et végétales par Abdelilah BOUTAYEB, Université Ibn Tofail - Licence 2013.

[45]<http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/D%C3%A9termination%20de%20l'indice%20d'acide/fr-fr/>

[46]<http://sainte-liberte.over-blog.com/article-determination-de-l'indice-d-acide-des-huiles-essentielles-62900014.html>

[47] <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:14479:fr>

[48] <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:3976:fr>

[49]<http://dictionnaire.sensagent.leparisien.fr/D%C3%A9termination%20de%20l'indice%20de%20saponification/fr-fr/>

[50] Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Landry M.L., Pfaller M.A., Manual of Clinical Microbiology, 9.Ed. American Society of Microbiology Press, 2007.

[51] Logan N.A., Rodriguez-Diaz M., Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Ed. Hawkey, 2006, p.139-158.

[52] Ray C. G., Enteric Infections and Food Poisoning, Sherris Medical Microbiology, 4 Ed. Mcgraw Hill, USA, 2004, p. 857-865.

[53] From C., Pukall R., Schumann P., Hormazabal V., Granum P. E., Toxin-producing ability among *Bacillus* spp. outside the *Bacillus cereus* group. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(3): 1178-1183.

[54] Zambonelli A., D'Aurelio A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A., Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris*. *Journal of Essential Oil Research*, 2004, 16: 69-74.

[55] Alawa C.B.I., Adamu A.M., Gefu J.O., Ajanusi O.J., Abdu P.A., Chiezey N.P., Alawa J.N., Bawman D.D., In vitro screening of two Nigerian medicinal plants, *Veronica amygdalina* and *Annona senegalensis*, for anthelmintic activity. *Elsevier Research*, 2003, 73-81.

[56] Chaker E.K., Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse de Doctorat université de Toulouse, 2010, p.70-71.

[57] Longevialle, 1981 ; Constantin, 1996.

[58] Marie Elisabeth Lucc, thèse sur Extraction sans solvants assistée par micro-ondes Maroc, 1982, 18-22.

[59] Verlet, 1997

[60] Catherine Desmares, Anne Laurent, Céline Delerme, Mai 2018 ; Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles, Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles ; Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé ; p 9.

[61] Jacques Grysole, la commercialisation des huiles essentielles, Québec.

- [62] Définition d'adultérer. <http://www.cnrtl.fr/definition/adult%C3%A9rer>
- [63] Report : Global fragrances, perfumes market to reach \$45.6B by 2018
[http://www.perfumerflavorist.com/fragrance/trends/Report-Global-Perfume-Market-To-Reach-About-456B-by-2018208332331.html?](http://www.perfumerflavorist.com/fragrance/trends/Report-Global-Perfume-Market-To-Reach-About-456B-by-2018208332331.html?utm_source=Related+Items&utm_medium=website&utm_campaign=Related+Items)
[utm_source=Related+Items&utm_medium=website&utm_campaign=Related+Items](http://www.perfumerflavorist.com/fragrance/trends/Report-Global-Perfume-Market-To-Reach-About-456B-by-2018208332331.html?utm_source=Related+Items&utm_medium=website&utm_campaign=Related+Items) .
- [64] Booker, A.; Frommenwiler, D.; Johnston, D.; Umealajekwu, C.; Reich, E.; Heinrich, M. Chemical variability along the value chains of turmeric (*Curcuma longa*): a comparison of nuclear magnetic resonance spectroscopy and high performance thin layer chromatography. *J. Ethnopharmacol.*, 152, 2014, 292-301.
- [65] Wagner, H.; Bauer, R.; Melchart, D.; Xiao, P. G.; Staudinger, A., *Chromatographic Fingerprint Analysis of Herbal Medicines: Thin-layer and High Performance Liquid Chromatography of Chinese Drugs*. Springer: Vienna, 2011.
- [66] Reynertson, K.; Mahmood, K., *Botanicals: Methods and Techniques for Quality & Authenticity*. CRC Press: Boca Raton, 2014.
- [67] Blumenthal, M., *Industry alert: Plantain adulterated with digitalis*. *HerbalGram*, 1997.
- [68] Conséquence de substitution d'une plante par une autre.
<http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2004/np3/fr/>.
- [69] Dr Sahraoui, 2014-2015, UN1901. Laboratoire de pharmacognosie, le contrôle des huiles_essentielles.PDF.
- [70] Dupont F, Guignard JL et *Botanique*, 2007, systématique moléculaire, Issy-les-Moulineaux: Masson, p : 285.
- [71] Ursula, Christian Fotsch et Susan Wacker, 2008, EGK, Caisse De Santé/Connaissance des herbes_Lavende.
- [72] Festy D. et Dupin C., 2012, *La lavande, c'est malin : Huile essentielle, fraîche ou séchée, découvrez les incroyables vertus de cette fleur, pour la beauté, la santé, la maison,...*, Ed. Leduc's.
- [73] Wichtl M. et Anton R., 1999, *Plantes thérapeutiques : tradition, pratique officinales, sciences et thérapeutique*, Ed. Tec et Doc.
101. Wilson M. et Girard G., 2007, *Fleurs comestibles du jardin à la table*, Ed. Fides.
- [74] Palikan W., 2002, *L'homme et les plantes médicinales*, Tome 1, Ed. Triades.
- [75] https://www.doc-developpement-durable.org/file/Plantes-Medicinales-Aromatiques/FICHES_PLANTES/Girofle/HE%20Clou%20de%20girofle.pdf
- [76] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Girofler>.
- [77] <http://www.trimetagroup.com/fr/girofle>.
- [78] Mohamed Faouzi Kasraoui, *Le Citronier*, 2006.
- [79] Jacqueline SMADJA, *Les huiles essentielles*, Université de la Réunion, 2000.
- [80] <https://www.passeportsante.net/fr/Solutions/HuilesEssentielles/Fiche.aspx?doc=huile-essentielle-citron>.
- [81] AFNOR, 2000, *Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 1 Echantillonnage et méthodes d'analyse*.
- [82] AFNOR, 1986, *Recueil des normes françaises « Huiles essentielles*, AFNOR. Paris, 57P.
- [84] *Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of Lavandula officinalis grown in the region of Skikda - Algeria*. Hicham Boughendjioua. Département des sciences naturelles, l'école normale supérieure d'enseignement technologique de Skikda

(ENSET), 21000, Algérie. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège - Volume 86 - Année 2017 Articles.

[85] M.A. Hossain, S.R.A.L. Harbi, A.M. Weli, Q. Al-Riyami, J.N. Al-Sabahi, Comparison of chemical constituents and antimicrobial activities of three essential oils from three different brands' clove samples collected from Gulf region, *Asian Pac. J. Trop Dis.* 4(2014)262-268.

[86] K. Bounnas, N. Bouzidi, Y. Daghbouche, S. Guarrigues, M. de la Guardia, M. El Hattab, 2018, Essential oil counterfeit identification through middle infrared spectroscopy, *Microchemical Journal*.

ANNEXE

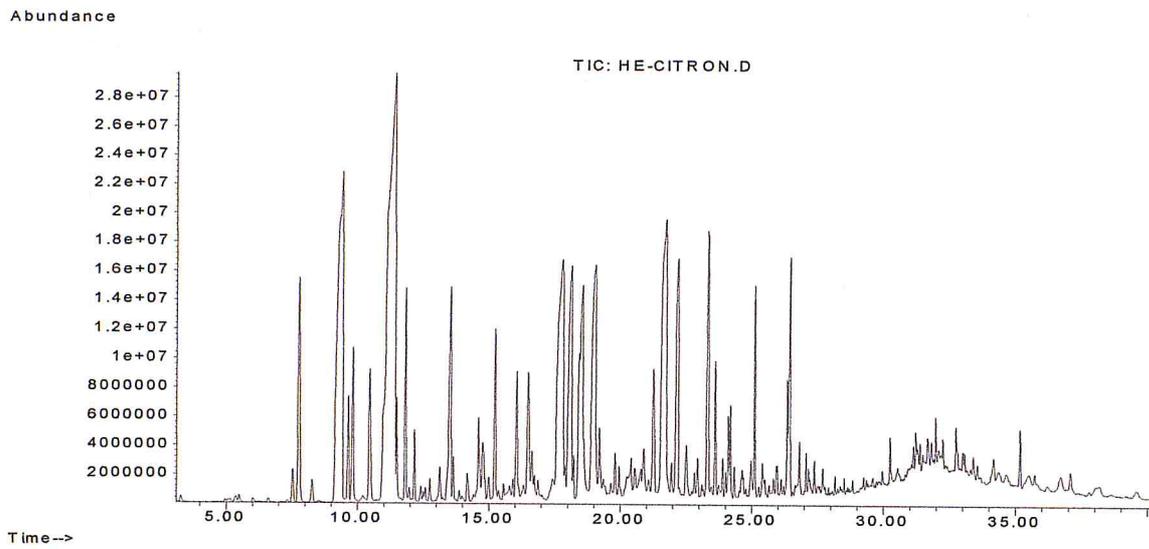


Figure 1 : spectre GC-MS de l'huile authentique de citron

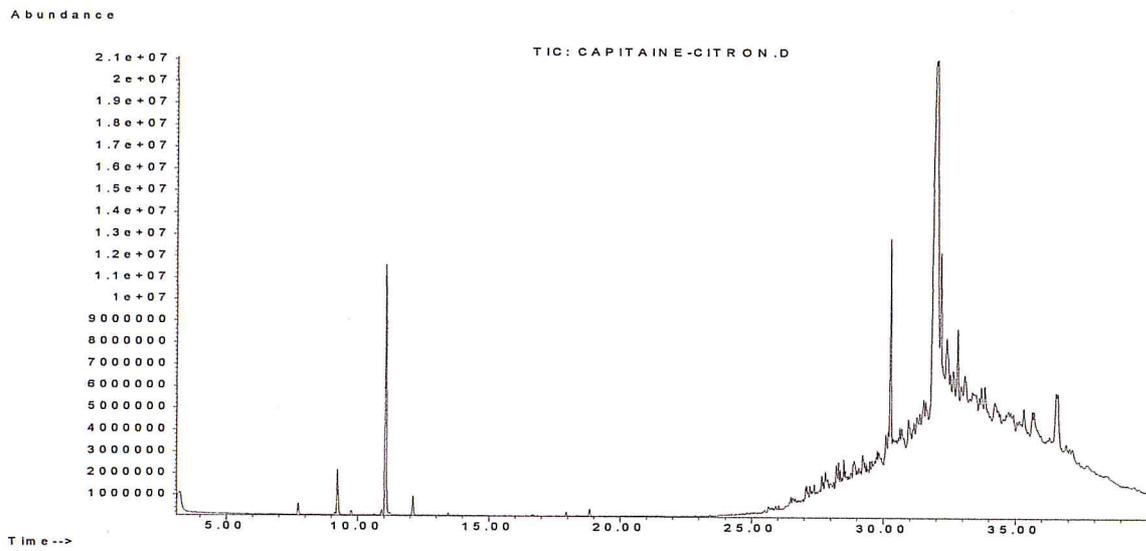


Figure 2 : spectre GC-MS de l'huile essentielle commerciale de citron El Captain

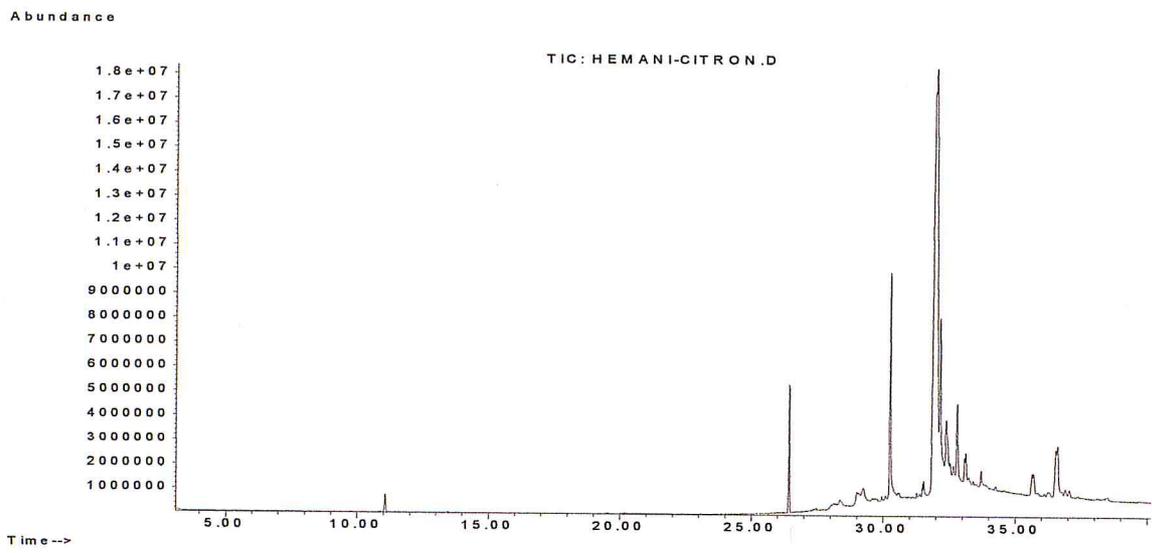


Figure 3 : spectre GC-MS de l'huile essentielle de citron Hemani

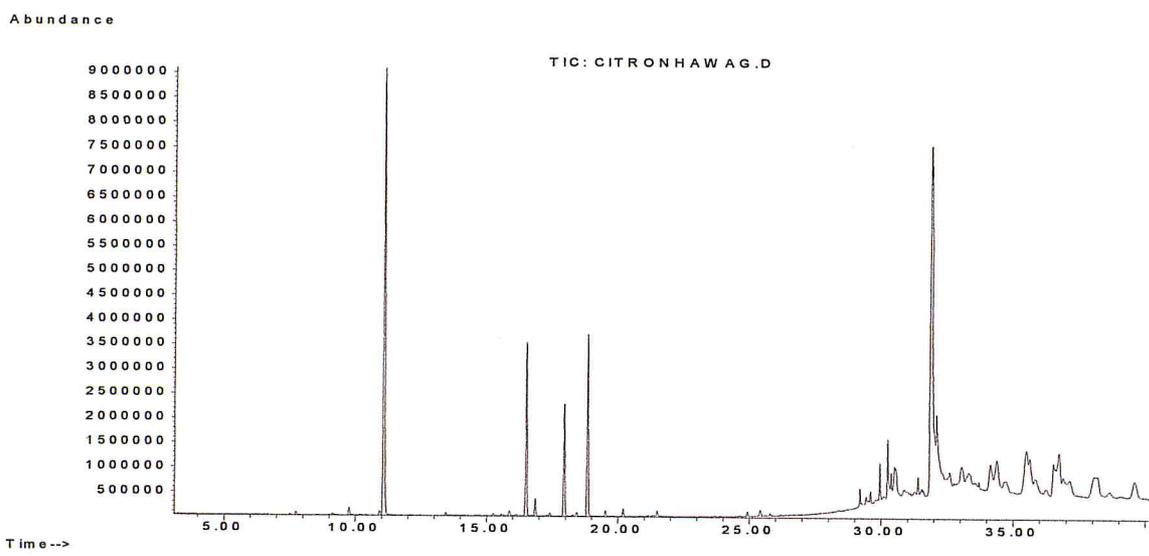


Figure 4 : spectre GC-MS de l'huile essentielle de citron Hawag

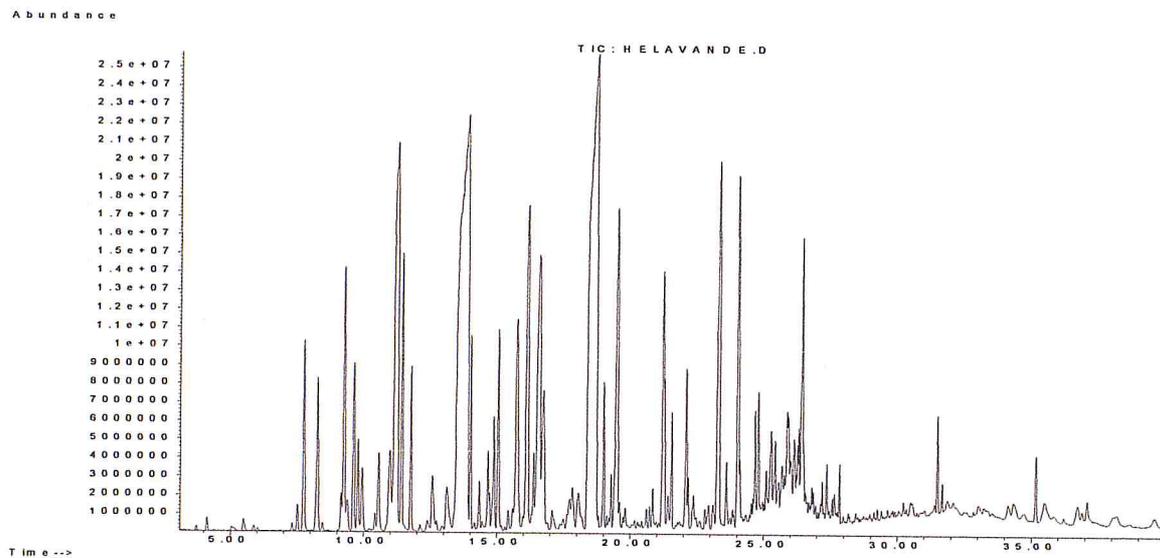


Figure 5 : spectre GC-MS de l'huile essentielle authentique de lavande

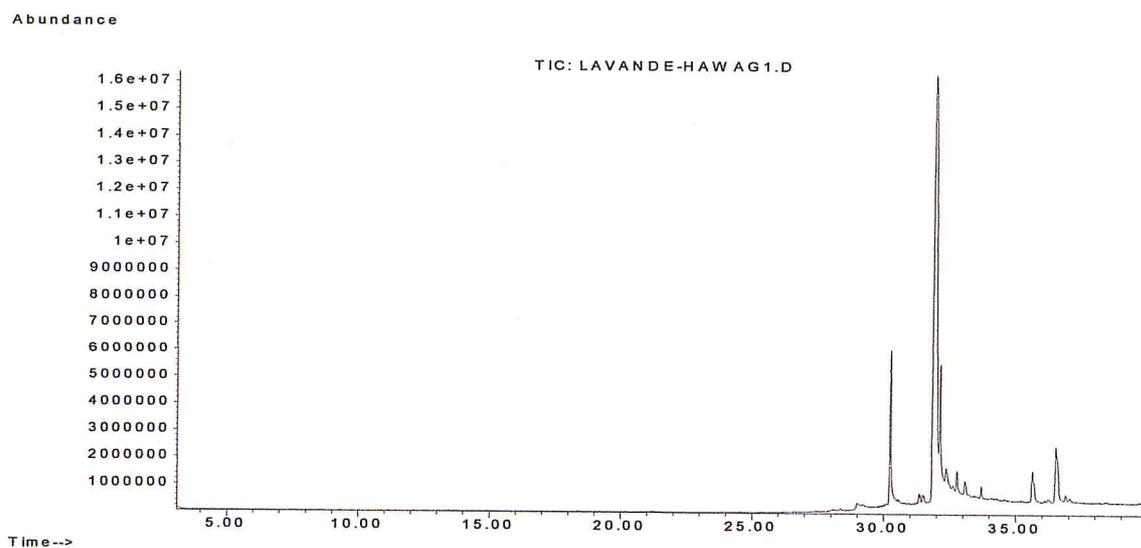


Figure 6 : spectre GC-MS de l'huile essentielle commerciale de lavande Hawag

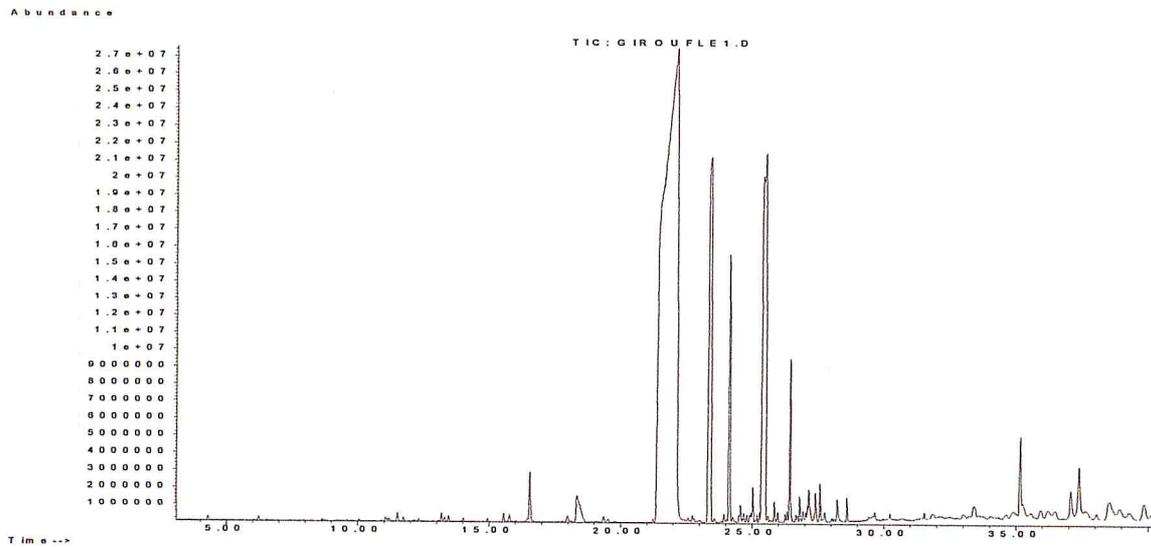


Figure 7 : spectre GC-MS de l'huile essentielle authentique de clou de girofle

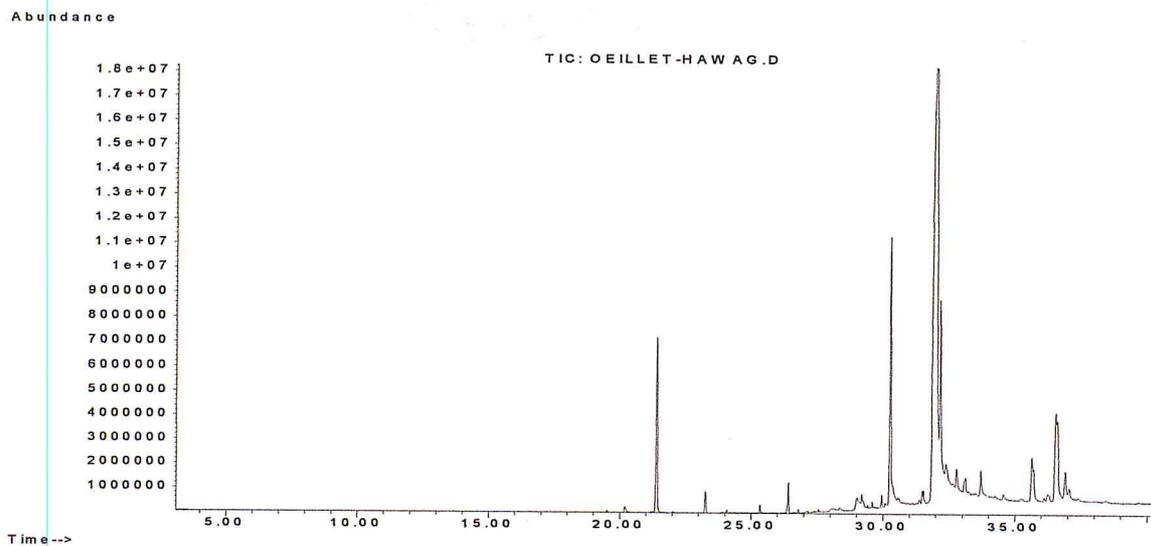


Figure 8 : spectre GC-MS de l'huile essentielle commerciale de clou de girofle Hawag

