ufr SMP

UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

ANNÉE 2019 - n° 25 - 19 - 12

Huiles essentielles d'aiguilles de conifères du massif Jurassien

Récolte et distillation de la matière première - Analyse des huiles essentielles - Mise sur le marché de produits finis

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 17 Mai 2019
pour obtenir le Diplôme d'État de

DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

LOLA KERAUDREN

Née le 19 Avril 1994 à Pontarlier (Doubs)

Président	CORINE GIRARD	PROFESSEUR EN PHARMACOGNOSIE
Directeurs	CORINE GIRARD	PROFESSEUR EN PHARMACOGNOSIE
	OLIVIER TISSOT	DOCTEUR EN PHARMACIE
Juges	OLIVIER TISSOT	DOCTEUR EN PHARMACIE
	YANN PELLEQUER	MAITRE DE CONFERENCES EN GALÉNIQUE

ufr SMP

UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ

ANNÉE 2019 - n° 25 - 19 - 12

Huiles essentielles d'aiguilles de conifères du massif Jurassien

Récolte et distillation de la matière première - Analyse des huiles essentielles - Mise sur le marché de produits finis

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 17 Mai 2019
pour obtenir le Diplôme d'État de

DOCTEUR EN PHARMACIE

PAR

LOLA KERAUDREN

Née le 19 Avril 1994 à Pontarlier (Doubs)

Président	CORINE GIRARD	PROFESSEUR EN PHARMACOGNOSIE
Directeurs	CORINE GIRARD	PROFESSEUR EN PHARMACOGNOSIE
	OLIVIER TISSOT	DOCTEUR EN PHARMACIE
Juges	OLIVIER TISSOT	DOCTEUR EN PHARMACIE
	YANN PELLEQUER	MAITRE DE CONFERENCES EN GALÉNIQUE

UNIVERSITÉ DE FRANCHE-COMTÉ
U.F.R. SCIENCES DE LA SANTE DE BESANÇON

DIRECTEUR	**PROFESSEUR THIERRY MOULIN**	
DIRECTEURS ADJOINTS	**PROFESSEUR XAVIER BERTRAND**	DOYEN PHARMACIE
	PROFESSEUR GILLES CAPELLIER	DIRECTEUR DES ETUDES
RESPONSABLE ADMINISTRATIVE	**MME CAROLE COINTEAU**	

DÉPARTEMENT MÉDECINE

PROFESSEUR Gilles CAPELLIER	DIRECTEUR DES ÉTUDES
PROFESSEUR JEAN-PAUL FEUGEAS	ASSESSEUR 1ER CYCLE
PROFESSEUR MARIE-FRANCE SERONDE	ASSESSEURS 2EME CYCLE
PROFESSEUR CATHERINE CHIROUZE	ASSESSEURS 3EME CYCLE
PROFESSEUR SEBASTIEN AUBRY	COORDINATEUR MEDECINE
PROFESSEUR PATRICK GARBUIO	COORDINATEUR CHIRURGIE
PROFESSEUR JEAN-MICHEL PERROT	COORDINATEUR MEDECINE GENERALE

DÉPARTEMENT PHARMACIE

PROFESSEUR XAVIER BERTRAND	DOYEN PHARMACIE
DOCTEUR LHASSANE ISMAILI (MCF)	DIRECTEUR DES ÉTUDES
PROFESSEUR SAMUEL LIMAT	COORDINATEURS 3EME CYCLE
PROFESSEUR FRANCINE GARNACHE	

DÉPARTEMENT MAÏEUTIQUE

BEATRICE LIEGEON VAN EIS (SAGE-FEMME)	COORDINATEURS PÉDAGOGIQUES
DOCTEUR NICOLAS MOTTET (MCU-PH)	

DÉPARTEMENT ODONTOLOGIE

PROFESSEUR CHRISTOPHE MEYER	COORDINATEUR PÉDAGOGIQUE

DÉPARTEMENT SCIENCES DE LA RÉÉDUCATION : ORTHOPHONIE

ALAIN DEVEVEY (MCF)	COORDINATEURS PÉDAGOGIQUES
DOCTEUR ELOI MAGNIN (MCU-PH)	

DÉPARTEMENT SCIENCES DE LA RÉÉDUCATION : KINÉSITHÉRAPIE

DOCTEUR PIERRE DECAVEL (MCU-PH)	COORDINATEURS PÉDAGOGIQUES
CHRISTOPHE DINET (KINESITHERAPIE - BESANÇON)	
ALEXANDRE KUBICKI (KINESITHERAPIE - BELFORT)	

DÉPARTEMENT SCIENCES EN SOINS INFIRMIERS

	CHRISTINE MEYER (SOINS INFIRMIERS)	COORDINATEURS PÉDAGOGIQUES
	DOCTEUR ANTOINE THIERY-VUILLEMIN (MCU-PH)	
	PROFESSEUR FABRICE VUILLIER	

RELATIONS HUMAINES DE L'UFR

	PROFESSEUR SYLVIE NEZELOF	ASSESSEUR

COMMISSION SCIENTIFIQUES DE L'UFR

	PROFESSEUR DANIEL WENDLING (PRESIDENT)	ASSESSEUR RECHERCHE
	PROFESSEUR EMMANUEL HAFFEN	CONSEILLERS
	PROFESSEUR FREDERIC MAUNY	
	PROFESSEUR FRANCINE GARNACHE	

CHARGÉS DE MISSIONS

COMUE / FORMATIONS PARAMEDICALES / RELATIONS UFC	PROFESSEUR BERNARD PARRATTE	CONSEILLER
FORMATION CONTINUE	PROFESSEUR RÉGIS AUBRY	COORDINATEURS
	MME SYLVIE DEVAUX (MCF)	
HISTOIRE DE LA MÉDECINE	PROFESSEUR LAURENT TATU	COORDINATEURS
	DOCTEUR PHILIPPE MERCET	
RELATIONS INTERNATIONALES	PROFESSEUR FRANÇOIS KLEINCLAUSS	COORDINATEURS
	DOCTEUR SOPHIE BOROT (MCU-PH)	
	DOCTEUR OLEG BLAGOSKLONOV (MCU-PH)	

MÉDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	Olivier	**ADOTEVI**	IMMUNOLOGIE
M.	Frédéric	**AUBER**	CHIRURGIE INFANTILE
M.	François	**AUBIN**	DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE
M.	Sébastien	**AUBRY**	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE
Mme	Alessandra	**BIONDI**	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE
M.	Jamal	**BAMOULID**	IMMUNOLOGIE
M.	Hugues	**BITTARD**	UROLOGIE
M.	Christophe	**BORG**	CANCÉROLOGIE
M.	Hatem	**BOULAHDOUR**	BIOPHYSIQUE ET MÉDECINE NUCLÉAIRE
M	Gilles	**CAPELLIER**	RÉANIMATION
Mme	Catherine	**CHIROUZE**	MALADIES INFECTIEUSES
M	Sidney	**CHOCRON**	CHIRURGIE THORACIQUE ET CARDIOVASCULAIRE
M.	Jean-Luc	**CHOPARD**	MÉDECINE LÉGALE ET DROIT DE LA SANTÉ
Mme	Cécile	**COURIVAUD**	NÉPHROLOGIE
M.	Jean-Charles	**DALPHIN**	PNEUMOLOGIE
M.	Siamak	**DAVANI**	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
M.	Benoît	**DE BILLY**	CHIRURGIE INFANTILE
M.	Eric	**DECONINCK**	HÉMATOLOGIE
M	Eric	**DELABROUSSE**	RADIOLOGIE ET IMAGERIE MÉDICALE
M.	Bernard	**DELBOSC**	OPHTALMOLOGIE
M.	Thibaut	**DESMETTRE**	MÉDECINE D'URGENCE
M.	Vincent	**DI MARTINO**	HÉPATOLOGIE
M.	Didier	**DUCLOUX**	NÉPHROLOGIE
M.	Dominique	**FELLMANN**	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
M.	Jean-Paul	**FEUGEAS**	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
M	Patrick	**GARBUIO**	CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
M.	Emmanuel	**HAFFEN**	PSYCHIATRIE d'ADULTES
M.	Georges	**HERBEIN**	VIROLOGIE
M.	Bruno	**HEYD**	CHIRURGIE GÉNÉRALE
M.	Didier	**HOCQUET**	HYGIÈNE HOSPITALIÈRE
M.	Philippe	**HUMBERT**	DERMATO- VÉNÉRÉOLOGIE
M	François	**KLEINCLAUSS**	UROLOGIE
Mme	Nadine	**MAGY-BERTRAND**	MÉDECINE INTERNE
M.	Frédéric	**MAUNY**	BIOSTATISTIQUES, INFORMATIQUE MÉDICALE ET TECHNOLOGIE DE COMMUNICATION
M.	Nicolas	**MENEVEAU**	CARDIOLOGIE
M.	Christophe	**MEYER**	CHIRURGIE MAXILLO FACIALE ET STOMATOLOGIE
M.	Fabrice	**MICHEL**	MÉDECINE PHYSIQUE ET DE RÉADAPTATION
Mme	Laurence	**MILLON**	PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
Mme	Elisabeth	**MONNET**	EPIDÉMIOLOGIE, ECONOMIE DE LA SANTÉ ET PRÉVENTION
M.	Thierry	**MOULIN**	NEUROLOGIE
Mme	Sylvie	**NEZELOF**	PÉDOPSYCHIATRIE

M	Laurent	**OBERT**	CHIRURGIE ORTHOPÉDIQUE ET TRAUMATOLOGIQUE
M.	Bernard	**PARRATTE**	ANATOMIE
M.	Sébastien	**PILI-FLOURY**	ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION
M.	Gaël	**PITON**	RÉANIMATION MEDICALE
M.	Patrick	**PLESIAT**	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
M	Clément	**PRATI**	RHUMATOLOGIE
M.	Jean-Luc	**PRETET**	BIOLOGIE CELLULAIRE
M	Rajeev	**RAMANAH**	GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE
M.	Didier	**RIETHMULLER**	GYNÉCOLOGIE - OBSTÉTRIQUE
M.	Simon	**RINCKENBACH**	CHIRURGIE VASCULAIRE
M	Christophe	**ROUX**	BIOLOGIE ET MÉDECINE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTION
M.	Emmanuel	**SAMAIN**	ANESTHÉSIOLOGIE RÉANIMATION
M.	François	**SCHIELE**	CARDIOLOGIE
Mme	Marie-France	**SERONDE**	CARDIOLOGIE
M	Laurent	**TATU**	ANATOMIE
M.	Laurent	**TAVERNIER**	OTO-RHINO-LARYNGOLOGIE
M.	Thierry	**THEVENOT**	HÉPATOLOGIE
M.	Laurent	**THINES**	NEUROCHIRURGIE
M.	Gérard	**THIRIEZ**	PÉDIATRIE
M.	Pierre	**TIBERGHIEN**	IMMUNOLOGIE
M.	Eric	**TOUSSIROT**	THÉRAPEUTIQUE
M.	Antoine	**TRACQUI**	MÉDECINE LÉGALE ET DROIT DE LA SANTÉ
M.	Pierre	**VANDEL**	PSYCHIATRIE d'ADULTES
M.	Lionel	**VAN MALDERGEM**	GÉNÉTIQUE
Mme	Rachel	**VIEUX**	PÉDIATRIE
M.	Fabrice	**VUILLIER**	ANATOMIE
M.	Daniel	**WENDLING**	RHUMATOLOGIE
Mme	Virginie	**WESTEEL-KAULEK**	PNEUMOLOGIE

PROFESSEURS EMÉRITES

M.	Paul	**BIZOUARD**	PEDOPSYCHIATRIE
M.	Jean-Luc	**BRESSON**	BIOLOGIE ET MÉDECINE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA REPRODUCTIO
M.	Alain	**CZORNY**	NEUROCHIRURGIE
M.	Gilles	**DUMOULIN**	PHYSIOLOGIE
M.	Georges	**MANTION**	CHIRURGIE GÉNÉRALE
Mme	Christiane	**MOUGIN**	BIOLOGIE CELLULAIRE
M.	Jacques	**REGNARD**	PHYSIOLOGIE
M.	Daniel	**SECHTER**	PSYCHIATRIE D'ADULTES
M.	Yves	**TROPET**	CHIRURGIE PLASTIQUE, RECONSTRUCTRICE ET ESTHÉTIQUE
Mme	Dominique	**VUITTON**	IMMUNOLOGIE

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	Clotilde	**AMIOT**	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
Mme	Anne-Pauline	**BELLANGER**	PARASITOLOGIE
Mme	Djamila	**BENNABI**	PSYCHIATRIE d'ADULTES
Mme	Sophie	**BOROT**	ENDOCRINOLOGIE, DIABÈTE ET MALADIES MÉTABOLIQUES
Mme	Malika	**BOUHADDI**	PHYSIOLOGIE
M.	Alain	**COAQUETTE**	VIROLOGIE
Mme	Elsa	**CURTIT**	CANCÉROLOGIE
M.	Benoît	**CYPRIANI**	BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
M.	Etienne	**DAGUINDAU**	HEMATOLOGIE
M.	Berardino	**DE BARI**	CANCÉROLOGIE RADIOTHERAPIE
M.	Pierre	**DECAVEL**	MÉDECINE PHYSIQUE ET DE RÉADAPTATION
Mme	Katy	**JEANNOT**	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
M.	Paul	**KUENTZ**	CYTOLOGIE ET HISTOLOGIE
M.	Daniel	**LEPAGE**	ANATOMIE
M.	Eloi	**MAGNIN**	NEUROLOGIE
Mme	Elisabeth	**MEDEIROS**	NEUROLOGIE
M.	Nicolas	**MOTTET**	GYNECOLOGIE OBSTETRIQUE
M	Patrice	**MURET**	PHARMACOLOGIE CLINIQUE
M.	Fabien	**PELLETIER**	DERMATO-VÉNÉRÉOLOGIE
Mme	Anaïs	**POTRON**	BACTÉRIOLOGIE - VIROLOGIE
M.	Antoine	**THIERY-VUILLEMIN**	CANCÉROLOGIE
M.	Frank	**VERHOEVEN**	RHUMATOLOGIE
M.	Jean-Pierre	**WOLF-BERTHELAY**	PHYSIOLOGIE

ENSEIGNANTS ASSOCIÉS

M.	Régis	**AUBRY**	PR associé THÉRAPEUTIQUE
M.	Rémi	**BARDET**	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Pascal	**JORDAN**	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	José-Philippe	**MORENO**	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Jean-Michel	**PERROT**	PR associé MÉDECINE GÉNÉRALE
Mme	Anne-Lise	**BOLOT**	MCFassocié MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Benoit	**DINET**	MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE
M.	Thierry	**LEPETZ**	MCF associé MÉDECINE GÉNÉRALE

PHARMACIE

PROFESSEURS

M.	Xavier	**BERTRAND**	MICROBIOLOGIE - INFECTIOLOGIE
Mme	Céline	**DEMOUGEOT**	PHARMACOLOGIE
Mme	Francine	**GARNACHE-OTTOU**	HÉMATOLOGIE
Mme	Corine	**GIRARD-THERNIER**	PHARMACOGNOSIE
M.	Frédéric	**GRENOUILLET**	PARASITOLOGIE-MYCOLOGIE
M.	Yves	**GUILLAUME**	CHIMIE ANALYTIQUE
M.	Samuel	**LIMAT**	PHARMACIE CLINIQUE
M.	Dominique	**MEILLET**	PARASITOLOGIE – MYCOLOGIE
M.	Bernard	**REFOUVELET**	CHIMIE ORGANIQUE ET THERAPEUTIQUE
Mme	Lysiane	**RICHERT**	TOXICOLOGIE
M.	Philippe	**SAAS**	IMMUNOLOGIE
Mme	Estelle	**SEILLES**	IMMUNOLOGIE
Mme	Marie-Christine	**WORONOFF-LEMSI**	PHARMACIE CLINIQUE

PROFESSEURS EMÉRITES

M.	Alain	**BERTHELOT**	PHYSIOLOGIE
Mme	Françoise	**BÉVALOT**	PHARMACOGNOSIE
Mme	Mariette	**MERCIER**	BIOMATHÉMATIQUES ET BIOSTATISTIQUES
Mme	Laurence	**NICOD**	BIOLOGIE CELLULAIRE

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

Mme	Claire	**ANDRE**	CHIMIE ANALYTIQUE
Mme	Aurélie	**BAGUET**	BIOCHIMIE
M.	Arnaud	**BEDUNEAU**	PHARMACIE GALÉNIQUE
M.	Laurent	**BERMONT**	BIOCHIMIE
M.	Oleg	**BLAGOSKLONOV**	BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
Mme	Oxana	**BLAGOSKLONOV**	GÉNÉTIQUE
M.	Eric	**CAVALLI**	CHIMIE PHYSIQUE ET MINÉRALE
M.	Jean-Patrick	**DASPET**	BIOPHYSIQUE
Mme	Sylvie	**DEVAUX**	PHYSIOLOGIE
M.	Yann	**GODET**	IMMUNOLOGIE
M.	Lhassane	**ISMAILI**	CHIMIE ORGANIQUE
Mme	Isabelle	**LASCOMBE**	BIOCHIMIE / ISIFC
Mme	Carole	**MIGUET ALFONSI**	TOXICOLOGIE
M.	Johnny	**MORETTO**	PHYSIOLOGIE
M.	Frédéric	**MUYARD**	PHARMACOGNOSIE
Mme	Virginie	**NERICH**	PHARMACIE CLINIQUE
M.	Yann	**PELLEQUER**	PHARMACIE GALÉNIQUE
M.	Marc	**PUDLO**	CHIMIE THÉRAPEUTIQUE
Mme	Nathalie	**RUDE**	BIOMATHÉMATIQUES ET BIOSTATISTIQUES
Mme	Perle	**TOTOSON**	PHARMACOLOGIE

AUTRES ENSEIGNANTS

Mme	Vanessa	**MARTIN**	PRAG ANGLAIS
M.	Alain	**DEVEVEY**	MAITRE DE CONFERENCES EN PSYCHOLOGIE
Mme	Clémence	**POROT**	MCF ASSOCIE EN BIOPHYSIQUE
Mme	Florence	**VAN LANDUYT**	PAST PHARMACIE CLINIQUE – OFFICINE

REMERCIEMENTS

À mon jury de thèse

À mon président et directeur de thèse,

Madame Corine Girard, professeur en pharmacognosie,

Pour m'avoir fait l'honneur de diriger cette thèse et d'en présider le jury.

« Vos connaissances sur les végétaux m'ont fascinée tout au long de mes études de pharmacie et j'ai toujours apprécié assister à vos cours. Vous m'avez fait aimer la botanique, la phytothérapie, l'aromathérapie… Travailler sur ce sujet de thèse a été une belle expérience et m'a donné envie d'enrichir davantage mes connaissances sur l'utilisation des plantes médicinales à l'officine.

Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de toute ma reconnaissance et de mes remerciements les plus sincères ».

À mon co-directeur et juge de thèse,

Monsieur Olivier Tissot, docteur en pharmacie,

Pour avoir accepter de m'accompagner pendant des mois et de faire partie de ce jury.

« Un énorme merci à vous, Olivier, ainsi qu'à votre ami et associé dans ce projet, Grégory. Merci à tous les deux pour le temps que vous m'avez accordé, à différentes occasions, pour répondre à toutes mes questions. Merci pour votre patience, votre enthousiasme et votre grande disponibilité !

J'ai beaucoup apprécié travailler cette thèse à vos côtés.

Trouvez ici l'expression de mes remerciements les plus chaleureux ».

À mon juge de thèse,

Monsieur Yann Pellequer, maître de conférences en galénique,

Pour avoir aimablement accepté de prendre part à ce jury.

« Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Veuillez trouver ici l'expression de toute ma gratitude et de mes sincères remerciements ».

À ma Famille,

À Mathieu,

« Je te remercie pour ta présence, ton soutien, ta gentillesse, ta patience, tes conseils et toutes les choses que nous partageons. Merci pour tout ce bonheur !
Trouve ici l'expression de tout mon amour ♡ ».

À mes parents,

« Je vous remercie infiniment Maman et Papa, pour toutes les choses que vous avez faites et que vous faites pour Célia et moi. Votre Amour, vos encouragements, vos conseils, votre présence… Vous nous avez tellement donné.
Ces six années d'études n'ont pas été faciles tous les jours, mais vous avez toujours su trouver les bons mots pour me soutenir et me rassurer.
Je ne vous remercierai jamais assez, je vous aime ».

À ma petite sœur Célia,

« Ta bonne humeur, ton soutien, tes encouragements et tes conseils m'ont toujours été les plus précieux !
Merci infiniment d'être comme tu es et je suis très fière de toi !!! Je t'aime ».

À mes grands-parents,

« Papy et Mamie, vous avez toujours été à mes côtés vous aussi... Vos conseils valent de l'Or et vous êtes des modèles pour moi ! Vous nous avez tellement appris. Merci pour tout.
Ma petite Mamie *''tu n'es plus là où tu étais, mais tu es partout là où je suis''*… Veille sur notre petite famille comme tu le faisais si bien. Je ne t'oublierai jamais…

Mamie Emma, malgré la distance, tu as été là aussi pour me soutenir. Maintenant que mes études sont terminées, je compte bien revenir un peu plus souvent en Bretagne te rendre visite.
Papou, continue de veiller sur notre famille, nous ne t'oublions pas ».

À mes tatas et tontons, cousines et cousins,

« Je vous remercie Kiki, Annie et Christian, Toutoune et Adrien, Cyril et Audrey pour vos encouragements, ainsi que mes petites Emma et Alice. Merci aussi à ma famille un peu plus lointaine, en Bretagne, avec une pensée pour Isa ma marraine, partie bien trop tôt…
Merci pour votre présence et votre soutien,
Cette thèse est pour moi l'occasion de vous adresser toute mon affection ».

À mes Amis,

« Un énorme MERCI Léa et Micka ! Je suis contente d'avoir fait ces années de pharma à vos côtés ! Grâce à vous, elles ont été formidables et je n'en garde que des supers souvenirs.
Merci Vivi, Théo, Riri, Missi et Thibaut, je ne suis pas prête d'oublier tous ces bons moments passés avec vous. Ne changez pas !
Merci également Lisa, Audrey, Marine, Manon, Élise, Antonin… pour votre bonne humeur et votre présence durant ces quelques années.
Merci Manue, Joséphine, Estelle et Edouard sans qui la PACES n'aurait jamais été pareille.
Merci aussi Cypriane, Marine, Marie, Maïté, Dustin, Louise, Solène, Mathilde, Stéphane, Sébastien… Malgré les années qui passent, c'est toujours un plaisir de vous retrouver !
Merci à toutes les personnes qui ont été là à un moment ou à un autre de mon parcours, je ne vous oublie pas. »

Aux pharmacies,

« À la Pharmacie de Doubs (Doubs), Messieurs Nguyen et Roussey, merci de m'avoir accueillie à l'occasion de mon stage officinal d'initiation. Merci Marie, Amélie, Céline, Corinne et Ingrid.

À la Pharmacie du Drugeon (Houtaud), Gilles et Catherine Mareschal, un grand merci pour votre gentillesse. Merci Nicolas, Alexandre, Sylviane, Nathalie, Lucie, Anne-Lise, Virginie, Aurélie et Laurie pour vos conseils, bienveillance et patience.

À la Pharmacie Gillet (Besançon), Madame Gillet, merci de m'avoir accueillie lors de mon stage de fin d'étude. Merci pour votre confiance. Merci Lucien pour vos conseils et vos anecdotes. Merci Corine pour ta gentillesse et ta patience aussi.

Aux Pharmacies Baltat (Ornans) et Roussel (Quingey), merci de votre confiance lors de mes premiers remplacements.

A la Pharmacie Forster (Rigney), merci Sophie et votre équipe pour votre accueil, votre bienveillance et votre gentillesse. Merci Florence et Francine ».

Enfin, un grand merci à Christelle Vogne, spécialisée en microbiologie en Suisse, pour les aromatogrammes qui ont pu être réalisés, ainsi qu'à Daniel Dantin de Pyrenessences pour les analyses chromatographiques.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maitres de la
faculté et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans
les préceptes de mon art et de leur
témoigner ma reconnaissance en
restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé
publique, ma profession avec
conscience et de respecter non
seulement la législation en
vigueur, mais aussi les règles de
l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité
et mes devoirs envers le malade
et sa dignité humaine ; en aucun
cas, je ne consentirai à utiliser
mes connaissances et mon état pour
corrompre les mœurs et favoriser
des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur
estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et
méprisée de mes confrères si j'y
manque.

SOMMAIRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS **1**

LISTE DES FIGURES **2**

LISTE DES TABLEAUX **4**

INTRODUCTION **5**

PARTIE 1. Généralités sur l'aromathérapie **7**

1. Introduction à l'aromathérapie **8**

1.1. Un peu d'histoire **8**

1.2. Définition de l'aromathérapie **8**

1.3. Les plantes médicinales **9**

1.3.1. La drogue végétale 9

1.3.2. Les plantes inscrites à la Pharmacopée 9

2. Les huiles essentielles (HE) **11**

2.1. Définition d'une HE **11**

2.2. Modes d'obtention d'une HE **11**

2.2.1. Distillation par la vapeur d'eau 12

2.2.2. Autres méthodes d'extraction 12

2.3. Composition chimique d'une HE **13**

2.3.1. Généralités sur la synthèse des molécules aromatiques 13

2.3.1.1. Biogenèse chez les végétaux 13

2.3.1.2. Photosynthèse & principales voies de biosynthèse 14

2.3.2. Quelques notions importantes 15

2.3.2.1. Notion de chémotype ou chimiotype 15

2.3.2.2. Notion de relations « structure / activité » 16

2.3.3. Les principaux composés des HE 17

2.3.3.1. Les deux grandes familles biochimiques 17

2.3.3.1.1. Les hydrocarbures terpéniques 17

2.3.3.1.2. Les dérivés du phénylpropane 24

2.3.3.2. Les principales classes biochimiques 26

2.3.3.2.1. Les esters ... 26
2.3.3.2.2. Les phénols et terpénols ... 28
2.3.3.2.3. Les aldéhydes ... 30
2.3.3.2.4. Les cétones ... 32
2.3.3.2.5. Les acides ... 33
2.3.3.2.6. Les oxydes ... 34
2.3.3.2.7. D'autres classes biochimiques… ... 35
2.4. Analyse d'une HE par chromatographie ... 36
2.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM) ... 36
2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) ... 36
2.5. Voies d'administration d'une HE ... 38
2.5.1. La voie interne ... 38
2.5.2. La voie externe ... 39
2.5.3. L'inhalation ou la diffusion ... 40
2.5.4. Le bain aromatique ... 41
2.6. Précautions d'emploi d'une HE ... 41
2.7. Conservation d'une HE ... 42

3. Les hydrolats aromatiques (HA) ... 42
3.1. Définition & mode d'obtention d'un HA ... 42
3.2. Composition chimique d'un HA ... 42
3.3. Voie d'administration d'un HA ... 43
3.4. Précaution d'emploi d'un HA ... 44
3.5. Conservation d'un HA ... 44

PARTIE 2. Les conifères et leurs HE - Étude de quelques HE issues d'aiguilles de conifères du massif du Jura ... 45

1. Production d'HE de conifères du massif Jurassien ... 46
1.1. Présentation du contexte ... 46
1.1.1. Présentation d'Aromacomtois ... 46
1.1.1.1. Sa création ... 46
1.1.1.2. Ses fondateurs ... 46
1.1.1.3. Ses objectifs ... 46
1.1.2. Présentation du massif du Jura ... 47
1.1.2.1. Sa situation ... 47
1.1.2.2. Son climat ... 48

1.1.2.3. Son boisement 48
1.1.3. Présentation des conifères 49
1.1.3.1. Taxonomie 49
1.1.3.2. La famille des *PINACEAE* 50
1.1.3.2.1. Présentation 50
1.1.3.2.2. Classification systématique 50
1.2. Les étapes nécessaires à la production des HE 51
1.2.1. Étape 1 - Identification et récolte de la matière première 51
1.2.1.1. Identification des espèces de conifère 51
1.2.1.1.1. Le sapin blanc 51
1.2.1.1.2. L'épicéa commun 53
1.2.1.1.3. Le pin sylvestre 55
1.2.1.1.4. Le sapin de Douglas 56
1.2.1.2. Récolte de la matière première 58
1.2.1.2.1. La drogue végétale 58
1.2.1.2.2. La cueillette sauvage 58
1.2.1.2.3. La récolte moyenne 60
1.2.2. Etape 2 - De la matière première à l'HE 60
1.2.2.1. Broyage de la matière première 60
1.2.2.2. Distillation des aiguilles 60
1.2.2.2.1. Présentation de l'alambic 60
1.2.2.2.2. Mise dans l'alambic 61
1.2.2.2.3. Fonctionnement de l'alambic 61
1.2.2.2.4. Produits issus de la distillation 62
1.2.2.3. Décantation de l'HE 63
1.2.2.4. Rendements des distillations 64
1.3. Analyses des HE de conifères du massif Jurassien 65
1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG) 65
1.3.1.1. Description du principe 65
1.3.1.2. Conditions des analyses 65
1.3.1.3. Profils chromatographiques obtenus 66
1.3.2. Les HE de conifères du massif Jurassien 66
1.3.2.1. Quelques généralités 66
1.3.2.2. Analyse de l'HE de sapin blanc 68
1.3.2.2.1. Description de l'HE 68
1.3.2.2.2. Profil chromatographique de l'HE 68
1.3.2.2.3. Discussion 70

1.3.2.3. Analyse de l'HE d'épicéa commun 72
1.3.2.3.1. Description de l'HE 72
1.3.2.3.2. Profil chromatographique de l'HE 72
1.3.2.3.3. Discussion 73
1.3.2.4. Analyse de l'HE de pin sylvestre 74
1.3.2.4.1. Description de l'HE 74
1.3.2.4.2. Profil chromatographique de l'HE 74
1.3.2.4.3. Discussion 75
1.3.2.5. Analyse de l'HE de sapin de Douglas 76
1.3.2.5.1. Description de l'HE 76
1.3.2.5.2. Profil chromatographique de l'HE 76
1.3.2.5.3. Discussion 77
1.3.2.6. Récapitulatif : composition des HE étudiées 78

2. Propriétés des HE d'aiguilles de conifères 78
2.1. Propriétés anti-infectieuses des HE 79
2.1.1. Influence de la composition de l'HE 79
2.1.2. Les HE de conifères étudiées 80
2.1.3. Influence de l'oxydation de l'HE 81
2.1.4. Expérimentation sur l'HE de sapin blanc du Jura 82
2.2. Propriétés décongestionnantes respiratoires des HE 85
2.3. Propriétés tonifiantes et stimulantes des HE 86
2.4. Propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antispasmodiques des HE 88
2.4.1. Propriétés antalgiques et anti-inflammatoires 88
2.4.1.1. Quelques généralités 88
2.4.1.2. Les HE de conifères étudiées 90
2.4.2. Propriétés antispasmodiques 91
2.5. Propriétés olfactives des HE 92
2.5.1. L'olfactothérapie 92
2.5.2. L'aromatisation 93

3. Toxicités et précautions d'emploi des HE de conifères 93
3.1. Toxicités des HE de conifères 93
3.1.1. Réactions allergiques 93
3.1.1.1. Quelques généralités 93
3.1.1.2. Précautions avec les HE de conifères 95
3.1.2. Dermocausticité 95

3.1.3. Néphrotoxicité 96
3.1.4. Neurotoxicité 97
3.2. Contre indications & précautions d'emploi 98

PARTIE 3. Utilisations des HE de conifères - Produits commercialisés & mises sur le marché de produits locaux 99

1. Résumés des indications des HE de conifères 100
1.1. HE d'aiguilles de sapin blanc 100
1.2. HE d'aiguilles d'épicéa commun 100
1.3. HE d'aiguilles de pin sylvestre 101
1.4. HE d'aiguilles de sapin de Douglas 102

2. Quelques exemples de produits retrouvés sur le marché 102
2.1. En cas d'affections des voies respiratoires 102
2.1.1. La voie externe 102
2.1.2. La voie respiratoire 103
2.1.3. La voie interne 104
2.2. En cas d'épidémie hivernale et de fatigue de l'organisme 104
2.2.1. La diffusion atmosphérique 105
2.2.2. La voie externe 105
2.2.3. La voie interne 106
2.3. En cas de douleurs 107

3. Les productions locales d'Aromacomtois 107
3.1. Généralités sur le projet 107
3.1.1. Introduction 107
3.1.2. Organisation des productions 108
3.1.3. Les bonnes pratiques & l'agriculture biologique 108
3.1.3.1. Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) 108
3.1.3.2. L'agriculture biologique 109
3.1.3.2.1. L'état de la plante aromatique 109
3.1.3.2.2. La certification biologique 109
3.2. Les produits obtenus après distillation 110
3.2.1. Les HE de conifères du massif Jurassien 110
3.2.1.1. Agitation et stockage des HE 111
3.2.1.2. Mise en flacon des HE 111

3.2.1.3. Vente en l'état des HE 112
3.2.2. Les HA de conifères du massif Jurassien 112
3.2.2.1. En théorie… 113
3.2.2.2. … en pratique 113
3.2.3. La matière première végétale 114
3.3. Les produits obtenus à base d'HE de sapin blanc 114
3.3.1. Production d'un parfum d'ambiance 115
3.3.2. Production de confiseries 116
3.3.3. Production de cosmétiques 117
3.3.3.1. Généralités sur les produits cosmétiques 117
3.3.3.1.1. Définition 117
3.3.3.1.2. Mise sur le marché 117
3.3.3.2. Production de savons 118
3.3.3.2.1. Savon liquide 118
3.3.3.2.2. Savon solide 119
3.3.3.3. Production d'une huile de massage 119
3.3.3.3.1. Définitions 119
3.3.3.3.2. Composition d'une huile de massage 120
3.3.3.3.3. L'huile de massage d'Aromacomtois 122
3.3.3.3.4. D'autres huiles de massage réalisables… 127

CONCLUSION 129

ANNEXES 131

BIBLIOGRAPHIE 153

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AB	Agriculture Biologique
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BPF	Bonnes Pratiques de Fabrication
COX	Cyclo-oxygénase
CPG / SM	Chromatographie Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse
CPNP	Cosmetic Products Notification Portal
CSP	Code de la Santé Publique
CSSC	Comité Scientifique européen sur la Sécurité des Consommateurs
CT	Chémotype
DGCCRF	Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes
DIP	Dossier d'Information sur le Produit
DMAPP	Diphosphate de diméthylallyle
FID	Détecteur à Ionisation de Flamme
FPP	Diphosphate de farnésyle
GGPP	Diphosphate de géranylgéranyle
GPP	Diphosphate de géranyle
HA	Hydrolat Aromatique
HE	Huile Essentielle
HECT	Huile Essentielle Chémotypée
HV	Huile Végétale
IL	Interleukine
IPP	Diphosphate d'isopentényle
LOX	Lipoxygénase
LT	Leucotriène
MAP Kinase	Mitogen-Activated Protein Kinase
$NF_{\kappa}B$	Nuclear Factor kappa B
NO	Monoxyde d'azote
ONF	Office National des Forêts
PEG	Polyéthylèneglycol
PG	Prostaglandine
SARL	Société À Responsabilité Limitée
SNC	Système Nerveux Central
TNFα	Facteur de Nécrose Tumoral alpha
TX	Thromboxane

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Alambic et distillation à la vapeur d'eau (13)..... 12
Figure 2. Photosynthèse et principales voies de biosynthèse (6)..... 14
Figure 3. Référentiel électrique (par P. Franchomme)(6) 17
Figure 4. Unité isoprène (26) 18
Figure 5. Biosynthèse des terpènes à partir de l'unité d'IPP (23) 19
Figure 6. Structure moléculaire de quelques monoterpènes (31)..... 22
Figure 7. Structure moléculaire de quelques sesquiterpènes (26)..... 23
Figure 8. Synthèse des molécules dérivées du phénylpropane (33) 24
Figure 9. Structure moléculaire de deux dérivés du phénylpropane (26) 26
Figure 10. Structure moléculaire de quelques esters monoterpéniques (35) 27
Figure 11. Structure moléculaire de deux phénols (6) 28
Figure 12. Structure moléculaire de quelques monoterpénols (26) 29
Figure 13. Structure moléculaire de quelques sesquiterpénols (6)..... 30
Figure 14. Structure moléculaire de quelques aldéhydes terpéniques (26)..... 31
Figure 15. Structure moléculaire de quelques aldéhydes aromatiques (26)..... 32
Figure 16. Structure moléculaire de trois cétones monoterpéniques (26) 33
Figure 17. Structure moléculaire de deux acides aromatiques (6)..... 34
Figure 18. Structure moléculaire d'un oxyde terpénique (6) 35
Figure 19. Schéma d'une chromatographie sur couche mince (38)..... 36
Figure 20. Schéma d'une chromatographie en phase gazeuse (41) 37
Figure 21. Logo de la société Aromacomtois (45) 46
Figure 22. Délimitation et végétation du massif Jurassien (47) 47
Figure 23. Boisement du massif du Jura (47) 48
Figure 24. Classification des familles de gymnospermes (49)..... 49
Figure 25. Allure du sapin blanc (55) 52
Figure 26. Aiguilles de sapin blanc (face supérieure / face inférieure) 52
Figure 27. Allure de l'épicéa (55) 54
Figure 28. Disposition des aiguilles d'épicéa 54
Figure 29. Allure du pin sylvestre (55) 55
Figure 30. Disposition des aiguilles et des cônes du pin sylvestre (55)..... 56
Figure 31. Allure du sapin de Douglas (55)..... 57
Figure 32. Cône et aiguilles du sapin de Douglas (63) 57
Figure 33. Quatre fagots de sapin blanc 59
Figure 34. Alambic horizontal d'Aromacomtois 61
Figure 35. Cuve percée vide / Cuve percée contenant les aiguilles broyées 61
Figure 36. Schéma représentant l'alambic horizontal d'Aromacomtois 62
Figure 37. Essencier contenant l'HE et l'HA de sapin blanc 63
Figure 38. Décantation de l'HE de sapin blanc dans une ampoule à décanter..... 63
Figure 39. Exemple d'un profil chromatographique..... 66
Figure 40. Principales familles biochimiques des HE de sapin blanc du massif Jurassien . 69
Figure 41. Comparaison des concentrations moléculaires dans les HE de sapin blanc..... 70

Figure 42. Principales familles biochimiques de l'HE d'épicéa du massif Jurassien 72
Figure 43. Principales familles biochimiques de l'HE de pin sylvestre du massif Jurassien 74
Figure 44. Principales familles biochimiques de l'HE de Douglas du massif Jurassien 76
Figure 45. Schéma représentant un aromatogramme 83
Figure 46. Schéma représentant l'interprétation d'un aromatogramme 83
Figure 47. Photographies des quatre aromatogrammes réalisés 84
Figure 48. Schéma d'ensemble des principales cibles et des molécules agissant sur la réponse inflammatoire (28) 90
Figure 49. Structure du limonène et de quelques produits de son oxydation (96) 94
Figure 50. Gamme Respiratoire Puressentiel® : Baume, Bain douche (100) 103
Figure 51. Gamme Respiratoire Puressentiel® : spray aérien, inhaleur, inhalation humide (100) 104
Figure 52. Naturactive® Pastille Respiratoire (101) 104
Figure 53. Weleda® Spray Assainissant Respiratoire (102) 105
Figure 54. Puressentiel® Bain Douche Tonus, Weleda® Bain revitalisant au Sapin (100)(102) 106
Figure 55. Pranarôm® Pranaforce Résistance & Défenses Naturelles (103) 107
Figure 56. Logo de "Nature & progrès" (106) 110
Figure 57. Conditionnement des flacons de 10 mL à partir des flacons de 1 L 111
Figure 58. Flacons d'HE de conifères du massif Jurassien 112
Figure 59. Quelques productions à base d'HE de sapin blanc du massif Jurassien 115
Figure 60. Mise en flacon des parfums d'ambiance produits à base d'HE de sapin blanc 115
Figure 61. Confiseries produites à partir d'HE de sapin blanc 116
Figure 62. Savons liquides à l'HE de sapin blanc 118
Figure 63. Savon solide à l'HE de sapin blanc du Jura 119
Figure 64. Huile de massage produite à base d'HE de sapin blanc 122
Figure 65. Mentions sur l'étiquette de l'huile de massage 126

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Avantages et inconvénients de travailler avec les aiguilles de conifères 59
Tableau II. Densité des HE des quatre espèces de conifères qui nous intéressent - Tableau issu de la documentation technique fournie par les laboratoires PhytoSun'Arôms (6) .. 63
Tableau III. Composition biochimique de l'HE de sapin blanc du massif Jurassien (en %) . 70
Tableau IV. Composition biochimique de l'HE d'épicéa commun du massif Jurassien (en %) 73
Tableau V. Composition biochimique de l'HE de pin sylvestre du massif Jurassien (en %) 75
Tableau VI. Composition biochimique de l'HE de sapin de Douglas du massif Jurassien (en %) 77
Tableau VII. Les principales classes moléculaires retrouvées dans les HE de conifères 78
Tableau VIII. Liste des substances allergènes présentes dans les HE de conifères du massif Jurassien (en %) 95
Tableau IX. Utilisation de l'HE d'aiguilles de sapin blanc (55) 100
Tableau X. Utilisation de l'HE d'aiguilles d'épicéa commun (55) 100
Tableau XI. Utilisation de l'HE d'aiguilles de pin sylvestre (55) 101
Tableau XII. Utilisation de l'HE d'aiguilles de sapin de Douglas (55) 102

INTRODUCTION

Caractérisée par une présence importante de forêt, la Bourgogne Franche Comté est l'une des régions les plus boisées de France (1). Riche de cet environnement et dans le cadre d'un nouveau projet, la société Aromacomtois s'est lancée dans la production d'huiles essentielles (HE) issues d'aiguilles de quelques conifères des montagnes du Jura.

Exploiter les vertus des aiguilles de conifères en capturant la forêt « dans un flacon », voilà l'idée qu'ont eue trois amis. En créant leur propre société, Aromacomtois, spécialisée dans la production d'HE locales, ils ont décidé de donner une « deuxième vie » aux conifères des montagnes et de fabriquer des produits naturels et bio les plus locaux possibles. Ainsi des aiguilles de sapins blancs, d'épicéas, de pins sylvestres, de sapins de Douglas, de mélèzes, de cèdres de l'Atlas originaires du massif Jurassien ont été récoltées, broyées et distillées afin d'obtenir des HE mises en flacon puis analysées avant leur mise sur le marché. À partir de ces HE locales, d'autres produits sont fabriqués secondairement et mis sur le marché également. Il s'agit de confiseries en gomme et bonbon dur, de cosmétiques sous forme de savons et huile de massage ainsi que de parfum d'ambiance et assainissant.

Au cours de ce travail, nous présenterons en première partie l'histoire de l'aromathérapie et son utilisation toujours très convoitée.
Dans un second temps, nous aborderons le projet d'Aromacomtois, société spécialisée dans la production d'HE issues des aiguilles des conifères du massif du Jura. Nous détaillerons les étapes nécessaires à l'obtention d'HE locales et de qualité : de la récolte de la matière première dans les forêts du Jura à leur mise sur le marché. Pour ce travail, nous nous intéresserons particulièrement à quatre espèces de conifères : le sapin blanc, l'épicéa commun, le pin sylvestre et le sapin de Douglas. Nous nous pencherons ensuite sur l'étude de ces HE. Après l'analyse de leur composition chimique, nous tenterons de comprendre et d'expliquer leurs potentielles propriétés et toxicités.

Dans une dernière partie, nous verrons sous quelles formes les HE de conifères sont le plus souvent retrouvées dans le commerce. Enfin, nous aborderons une autre facette du travail d'Aromacomtois qui consiste en la fabrication et la mise sur le marché de « produits dérivés » conçus à partir de ces HE du massif Jurassien.

PARTIE 1.

Généralités sur l'aromathérapie

1. Introduction à l'aromathérapie

1.1. Un peu d'histoire

Les plantes aromatiques sont utilisées par les Hommes depuis des millénaires, mais le terme « aromathérapie » est apparu pour la première fois au début du XXème siècle grâce à René-Maurice Gattefossé, pharmacien français et véritable père de l'aromathérapie moderne. C'est en se brûlant la main lors d'une explosion dans son laboratoire, que ce chercheur a eu le réflexe de la plonger dans un récipient contenant de l'HE de lavande vraie. Le soulagement, la guérison rapide et la cicatrisation de la plaie l'incitent à se consacrer à l'étude des HE et leurs propriétés (anti-infectieuse, anesthésiante, cicatrisante) pendant de nombreuses années (2).

Depuis, et grâce à de nombreux autres travaux de recherche sur les HE, les connaissances sur l'aromathérapie progressent continuellement. Cela a même donné naissance à l'aromathérapie moderne qui a pris un véritable essor dans les années 1970 (3). L'efficacité de cette médecine alternative ne cesse d'apporter à l'Homme, confort et bien-être au quotidien (4).

1.2. Définition de l'aromathérapie

Le mot « aromathérapie » vient du latin « *aroma* » qui signifie odeur, et du grec « *therapeia* » qui signifie soin / cure. L'aromathérapie se définie comme une thérapeutique naturelle qui utilise les extraits de plantes aromatiques, ces végétaux qui contiennent des composants odorants (4)(5).

Ces molécules odorantes produites par une plante aromatique forment une essence et peuvent être sécrétées dans un ou plusieurs de ses organes. Il peut s'agir des fleurs (rose), des fruits (muscade), des tiges (ciboule), des feuilles (eucalyptus), des rhizomes (curcuma), des racines (vétiver) ou encore des écorces (cannelle). Ces parties de plantes contiennent des tissus végétaux spécialisés dans la synthèse de ces substances complexes (cellules sécrétrices isolées, poils sécréteurs, poches…) (3)(6).

C'est l'utilisation de ces essences, dans la prévention ou le traitement de certaines pathologies ainsi que dans l'amélioration du bien-être et de la santé de l'Homme, qui est appelée aromathérapie, et qui constitue l'une des branches de la phytothérapie, médecine fondée sur l'utilisation des plantes (7)(8).

Il est tout de même important de préciser que l'aromathérapie ne remplace en aucun cas la médecine conventionnelle, mais qu'elle peut lui être complémentaire (3).

1.3. Les plantes médicinales

1.3.1. La drogue végétale

Une drogue végétale est essentiellement une plante ou partie de plante utilisée dans un but thérapeutique. En aromathérapie, la drogue végétale correspond à la plante, ou la partie de plante, utilisée pour la réalisation des distillations. Cette partie de plante est en générale bien précise et diffère en fonction des espèces. Elle peut être utilisée entière, fragmentée ou coupée, sous forme desséchée ou à l'état frais.

La drogue végétale est obtenue à partir de plantes sauvages ou cultivées, dans des conditions de récolte, de séchage et de stockage appropriées, pour garantir sa qualité. Aussi, elle doit répondre aux exigences mentionnées dans sa monographie, retrouvée dans la Pharmacopée européenne ou française.

1.3.2. Les plantes inscrites à la Pharmacopée

Au sens de la Pharmacopée européenne, les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Il est rare que la plante soit utilisée entière, le plus souvent une ou plusieurs parties peuvent avoir des utilisations différentes.

Ces plantes médicinales sont également inscrites à la Pharmacopée française, ouvrage officiel et règlementaire qui recueille l'ensemble des monographies des substances

thérapeutiques. Chaque monographie regroupe des spécifications définissant les caractéristiques qualitatives et quantitatives d'une substance, dans le but d'assurer une qualité optimale compatible avec les exigences de santé publique (9).

Concernant les plantes médicinales, la Pharmacopée française recense deux listes bien distinctes :

- La **Liste A** regroupe « *les plantes médicinales utilisées traditionnellement* ». Les monographies précisent les critères de qualité et servent de base pour leurs contrôles. Exemples :
  - Ginkgo, *Ginkgo biloba GINKGOACEAE,* partie de plante utilisée : feuille
  - Valériane, *Valeriana officinalis VALERIANACEAE*, partie de plante utilisée : partie souterraine
- La **Liste B** présente « *les plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparations et dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs au bénéfice thérapeutique attendu* ». Exemples :
  - If, *Taxus baccata TAXACEAE,* partie de plante utilisée : feuille
  - Pervenche de Madagascar, *Catharanthus roseus APOCYNACEAE*, partie de plante utilisée : feuille

Sous forme de tableau, pour chaque plante médicinale, il est précisé le nom français et le nom latin ainsi que la famille botanique, la partie de plante utilisée de même que la partie de plante connue pour sa toxicité dans le cas de la Liste B (9)(10).

2. Les huiles essentielles (HE)

Utilisées depuis de très nombreuses années pour leurs parfums ou pour soulager de nombreux symptômes, les HE connaissent de nos jours un renouveau important (7).

2.1. Définition d'une HE

Selon la Pharmacopée européenne, une HE est « *un produit odorant, généralement de composition complexe, et obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'HE est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entrainant pas de changement significatif de sa composition. La matière première végétale utilisée pour la distillation peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contusée ou pulvérisée* » (8).

Les HE utilisées en aromathérapie doivent être de bonne qualité, parfaitement identifiées, pures et totalement naturelles. Une grande rigueur est de mise à tous les stades de leur production, de la récolte de la matière première à leur stockage (6).

2.2. Modes d'obtention d'une HE

Comme l'indique la Pharmacopée européenne, il existe trois méthodes d'extraction pour la production d'une HE de qualité. La distillation par entraînement à la vapeur d'eau est la méthode la plus utilisée. Il existe également la distillation sèche ainsi qu'un procédé mécanique approprié sans chauffage. D'autres procédés existent mais ne permettent pas d'obtenir une HE conforme à la Pharmacopée (8).

C'est le choix du mode d'obtention qui conditionne les caractéristiques de l'HE comme sa viscosité, sa couleur, sa solubilité ou encore sa volatilité (11).

2.2.1. Distillation par la vapeur d'eau

Cette méthode est la plus ancienne et la plus utilisée pour la production d'une HE de qualité, puisqu'elle n'altère pas les molécules présentes dans le mélange. La distillation par entrainement à la vapeur d'eau ou hydro-distillation, repose sur le caractère hydrophobe des HE et sur la volatilité des molécules aromatiques entrainées par la vapeur d'eau (12). Le dispositif utilisé pour ce procédé est un alambic (Figure 1).

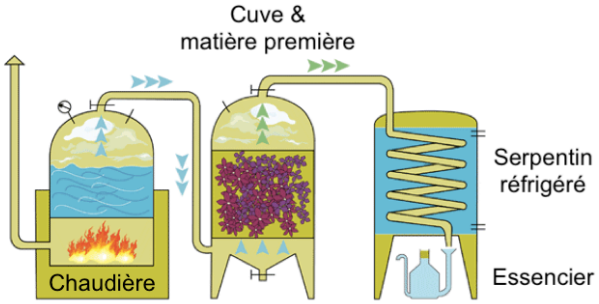


Figure 1. Alambic et distillation à la vapeur d'eau (13)

Le principe de l'hydro-distillation consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau distillée à l'intérieur d'une cuve remplie de matière première. Sous l'action de la chaleur, les molécules volatiles présentes dans la matière végétale sont libérées et entrainées par la vapeur. Ce mélange passe ensuite dans un serpentin réfrigéré. Au contact du serpentin, la vapeur constituée d'eau distillée et des molécules volatiles végétales, se condense. Le liquide obtenu est récupéré dans un essencier en fin d'alambic, il s'agit d'un mélange non miscible composé d'une phase aqueuse (= hydrolat aromatique (HA)), et d'une phase « huileuse » (= HE). La séparation de ces deux phases se fait par leur différence de densité (12)(14).

2.2.2. Autres méthodes d'extraction

D'après la définition de la Pharmacopée européenne, une HE de qualité médicinale peut également être extraite par d'autres méthodes, comme la distillation sèche ou un procédé mécanique approprié et sans chauffage. Citons à titre d'exemple l'extraction par pression à froid ou expression, technique utilisée notamment pour les

agrumes. Dans ce cas les écorces ou les zestes sont pressés manuellement ou par une machine permettant la récupération d'une essence aromatique.

D'autres méthodes permettant la fabrication d'HE de qualité non médicinale existent. Ces HE obtenues par extraction au CO_2 supercritique, par solvant, par micro-ondes, par ultra-sons ou par pyrolyse ne sont pas pures. Cette dénaturation impose une grande vigilance (14).

2.3. Composition chimique d'une HE

Les HE sont des extraits végétaux très complexes et très concentrés en molécules aromatiques pouvant appartenir à différentes familles chimiques. Il existe environ 2 000 molécules aromatiques, et une seule et même HE peut en contenir une centaine, dans des proportions très variables (15).

2.3.1. Généralités sur la synthèse des molécules aromatiques

2.3.1.1. Biogenèse chez les végétaux

Comme tous les organismes vivants, les végétaux ont besoin de substances organiques pour vivre, se développer et se reproduire. Un certain nombre de molécules issues de leurs métabolismes sont nécessaires et indispensables (6).

On distingue deux types de métabolismes chez les végétaux. Le métabolisme primaire permet la production de molécules importantes et essentielles à leur vie, comme des sucres, des lipides, des protéines et des acides nucléiques ; le métabolisme secondaire élabore d'autres molécules utiles pour l'adaptation des organismes à leur environnement et aux propriétés pharmacologiques intéressantes (16).

2.3.1.2. Photosynthèse & principales voies de biosynthèse

La biosynthèse des essences chez les végétaux a pour origine la photosynthèse. Ce processus permet aux végétaux de produire plusieurs types de molécules à partir de l'énergie solaire par l'intermédiaire de la chlorophylle.

Les pigments verts de la chlorophylle captent les rayons solaires. Grâce à cette énergie, des molécules d'eau entrainent la synthèse d'oxygène et d'hydrogène. L'oxygène est rejeté dans l'atmosphère alors que l'hydrogène se combine au gaz carbonique absorbé par la plante de sorte à former des sucres ainsi que de nombreuses autres substances organiques issues de deux voies principales de biosynthèse : la voie des terpénoïdes et la voie des phénylpropanoïdes (Figure 2) (6).

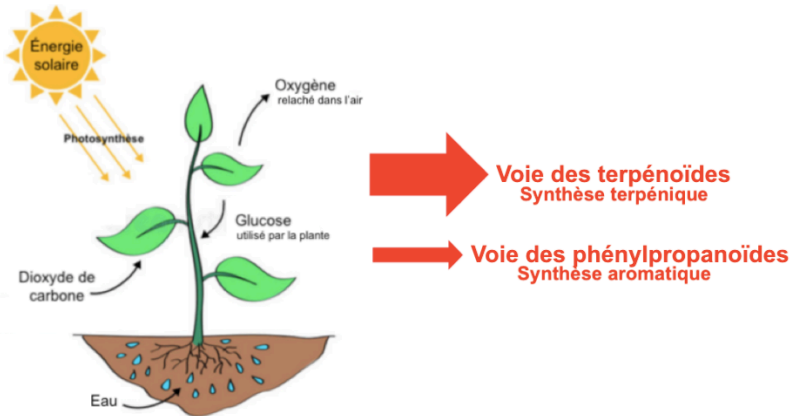


Figure 2. Photosynthèse et principales voies de biosynthèse (6)

Ces deux voies de biosynthèse permettent d'établir des relations biogéniques entre les molécules (17).

La plupart du temps, une HE est constituée de plusieurs familles chimiques de molécules. On retrouve notamment les deux grands groupes de composés : les terpènes (ou terpénoïdes) issus de la voie des terpénoïdes et les dérivés du phénylpropane issus de la voie des phénylpropanoïdes. D'autres molécules peuvent entrer dans la composition des HE, généralement en plus faible quantité (14).

La composition chimique des HE dépend à la fois de l'espèce de la plante considérée et de son chémotype mais aussi du milieu d'où elle provient c'est à dire son biotope.

2.3.2. Quelques notions importantes

2.3.2.1. Notion de chémotype ou chimiotype

Pour une même espèce de plante, la composition chimique de l'HE peut être très variable. Ces variations sont définies par la notion de chémotype (CT) ou chimiotype ou encore race chimique, qui désigne la molécule majoritairement présente dans l'HE.

Ces variations biochimiques peuvent être liées à la plante elle-même et à son patrimoine génétique mais aussi au milieu biologique d'où elle provient, notamment la composition et la nature du sol, les conditions climatiques (humidité, pluviométrie, ensoleillement, température), l'altitude ou encore les agressions extérieures. Des variations minimes de composition peuvent également être liées aux conditions de production de l'HE (saison de récolte, moyens d'extraction et de stockage) (14)(18).

Cette notion de chémotype est très importante puisque deux HE issues de deux plantes d'une même espèce mais aux profils biochimiques différents ne possèderont pas les mêmes propriétés thérapeutiques (12). Par exemple, il existe trois chémotypes pour l'HE de Romarin *Rosmarinus officinalis* (14) :

- CT *camphre* : possède des propriétés décontracturantes et anti-inflammatoires ;
- CT *1,8-cinéole* (*eucalyptol*) : a des propriétés mucolytique et antiseptique pulmonaire ;
- CT *verbénone* : est plutôt cholagogue et hépatoprotectrice.

La connaissance du chémotype est donc indispensable afin de sélectionner une HE pour une utilisation précise et efficace (19). En effet, pour être sûr de la qualité, des propriétés sur la santé et des toxicités potentielles d'une HE, il est fondamental et indispensable de connaître avec exactitude ses constituants chimiques.

De nos jours, il existe de nombreuses techniques analytiques permettant d'identifier et de quantifier précisément les molécules qui composent une HE (20).

2.3.2.2. Notion de relations « structure / activité »

En fonction de sa composition chimique, une HE peut présenter une activité pharmacologique particulièrement intense et être bénéfique sur de nombreux symptômes. Les différentes combinaisons de molécules sont à l'origine des propriétés et de l'odeur caractéristique d'une HE (21).

La plupart du temps, une HE est caractérisée par 2 ou 3 composés majoritaires, présents à des concentrations élevées (20 à 70% du mélange) par rapport aux autres molécules retrouvées à l'état de traces. Généralement, ce sont ces composés majoritaires qui déterminent les propriétés biologiques d'une HE.
À titre d'exemple, nous pouvons citer l'HE d'Origan (*Origanum compactum*), composée principalement de deux phénols, le carvacrol (30%) et le thymol (27%), responsables de son activité anti-infectieuse.

Des relations ont donc été établies entre la structure chimique d'une molécule et son activité biologique. Il a été constaté qu'une famille chimique donnée présente des propriétés générales et que chaque molécule est unique et possède son propre profil d'activité (qui dépend de sa famille chimique et des groupements fonctionnels qu'elle porte). Nous comprenons qu'une certaine molécule peut agir sur diverses cibles et dévoiler des propriétés différentes.

Des scientifiques ont étudié le comportement électrique, la polarité et l'hydro-solubilité de différentes molécules aromatiques et les ont réparties sur un référentiel électrique. Chaque famille biochimique a montré des propriétés qui lui sont propres et a une place bien définie sur le référentiel électrique suivant (Figure 3) (6).

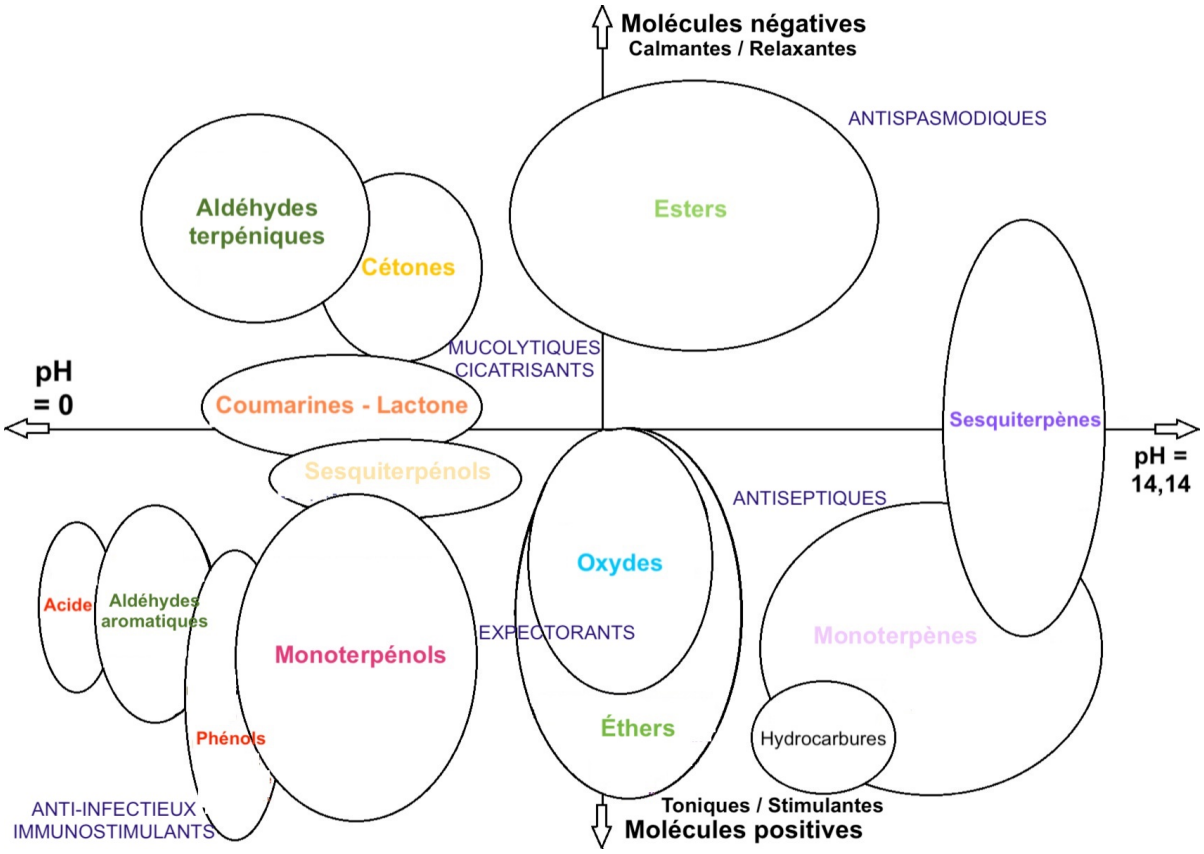


Figure 3. Référentiel électrique (par P. Franchomme)(6)

Ces données permettent partiellement d'expliquer, de confirmer ou de prévoir l'activité thérapeutique d'une HE (6).

2.3.3. Les principaux composés des HE

2.3.3.1. Les deux grandes familles biochimiques

2.3.3.1.1. Les hydrocarbures terpéniques

2.3.3.1.1.1. Introduction

Les terpènes, ou terpénoïdes, forment une famille de composés très répandus dans le règne végétal. C'est la plus large famille de produits naturels, avec plus de 22 000 composés décrits. Elle représente la majorité des molécules contenues dans les HE en général. Ce sont des molécules odorantes et très volatiles, entrainables à la vapeur d'eau et possédant différentes fonctions biologiques suivants leur taille (22).

De nos jours, ces terpènes extraits de plantes sont retrouvés dans différents produits : parfums, arômes, polymères (caoutchouc) ou encore agents pharmaceutiques (artémisinine) et insecticides (23).

Pour les végétaux, les métabolites terpéniques ont plusieurs fonctions biologiques (22). Ils interviennent dans la croissance et le développement des plantes (phytohormones : acides abscissique et gibbérellique), dans la photosynthèse (pigment : caroténoïdes et phytol) ainsi que dans la structure des membranes cellulaires (phytostérols) permettant la stabilité, la fluidité et la perméabilité de ces membranes (23). Ces molécules ont également un rôle de défense et de cicatrisation des plaies notamment chez les espèces de pins (24). Aussi, les terpènes jouent un rôle important dans les mécanismes de communication et de défense des plantes avec l'environnement.

2.3.3.1.1.2. Synthèse des terpènes

Tous les terpènes sont bio-synthétisés à partir de l'unité isoprénique constituée de cinq atomes de carbone (C_5H_8 : 2-méthyl-1,3-butadiène). Cette biosynthèse repose sur la règle de l'isoprène qui consiste en la répétition de cette unité. Ce concept met en évidence la relation structurelle commune entre tous les terpénoïdes (22)(25).

Le précurseur des terpénoïdes sous sa forme active est appelé le diphosphate d'isopentényle (IPP) (Figure 4) et son isomère est le diphosphate de diméthylallyle (DMAPP). Ces deux précurseurs sont à l'origine de la synthèse de tous les terpènes.

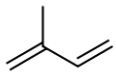


Figure 4. Unité isoprène (26)

Les monoterpènes (C_{10}) sont des molécules à 10 carbones, issues de la condensation de 2 unités isoprénique (C_5 x 2 = C_{10}). Les sesquiterpènes (C_{15}) sont synthétisés à partir de la condensation de 3 unités isopréniques (C_5 x 3 = C_{15}). Les diterpènes (C_{20}) sont issus de la condensation de 4 unités d'isoprènes (C_5 x 4 = C_{20}) et enfin les triterpènes (C_{30}) proviennent de la condensation de 6 unités d'isoprènes (C_5 x 6 = C_{30}).

C'est à partir des deux précurseurs, l'unité d'IPP et le DMAPP, et grâce à trois enzymes, les phényltransférases, que se fait la synthèse des terpénoïdes d'ordre supérieur (Figure 5). Cette première condensation permet la formation d'un premier substrat, le diphosphate de géranyle (GPP), précurseur des monoterpènes (C_{10}).
Puis, la condensation d'une unité d'IPP supplémentaire sur le GPP permet la formation du diphosphate de farnésyle (FPP), précurseur des sesquiterpènes (C_{15}). Enfin, la condensation d'une dernière unité d'IPP avec le FPP aboutit à la production du diphosphate de géranylgéranyle (GGPP), précurseur des diterpènes (C_{20}). Ce dernier précurseur peut se condenser ensuite avec une ou plusieurs autres unités d'IPP pour former des composés isopréniques en C_{30} (stérols), en C_{40} (caroténoïdes), en C_{45} puis en C_{50} (22).

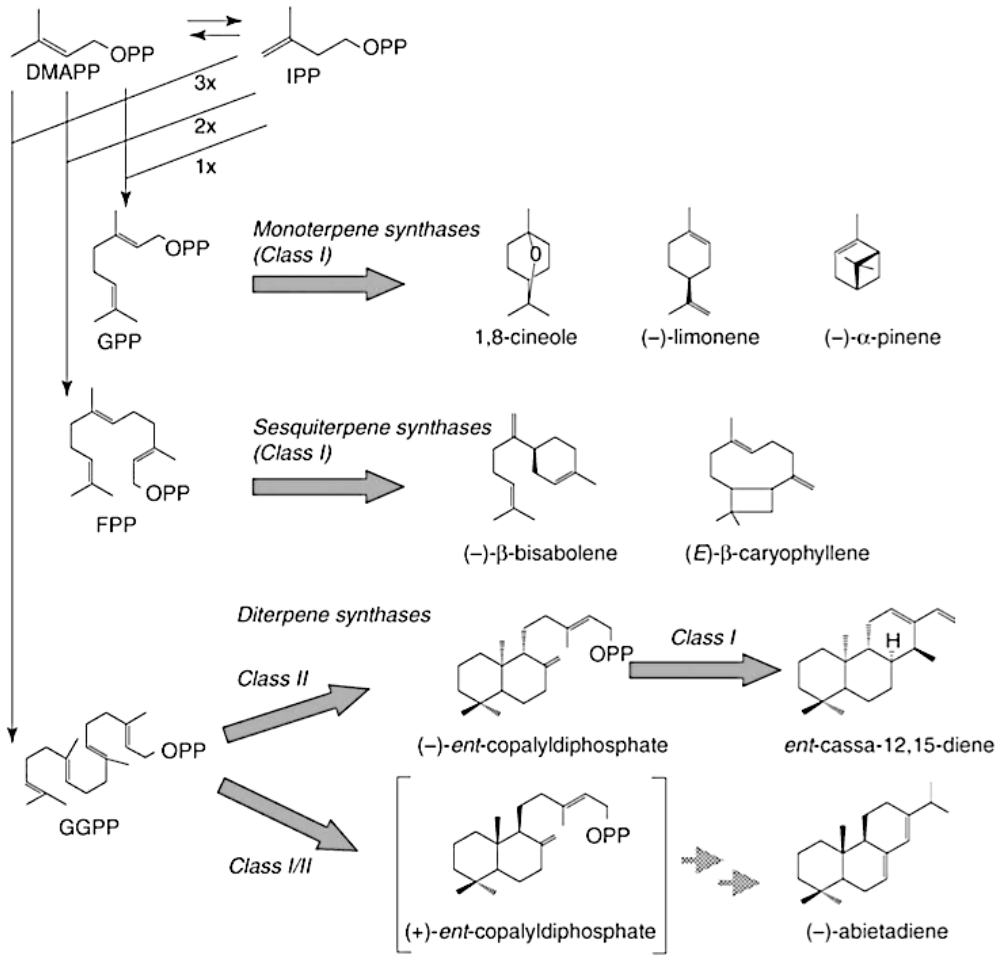


Figure 5. Biosynthèse des terpènes à partir de l'unité d'IPP (23)

2.3.3.1.1.3. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques se polymérisent et se restructurent très facilement, ce qui peut avoir des conséquences sur leur activité biologique. Afin d'éviter l'apparition de ces modifications, les HE riches en terpènes ne devront pas être exposées à l'air, à la chaleur ni à la lumière (6).

Aussi, toutes ces molécules peuvent être saturées ou insaturées, cycliques ou acycliques et peuvent porter dans leur structure de base différentes fonctions comme les fonctions alcool, ester, cétone, aldéhyde, phénol ou étheroxyde par exemple (14).

2.3.3.1.1.3.1. Les monoterpènes

❖ **Propriétés des monoterpènes**

Ces molécules, de structures très variées, présentent des propriétés intéressantes.

- **Stimulants** : les monoterpènes sont de remarquables toniques, neurotoniques, stimulants généraux et immunostimulants. Certains de ces composés possèdent une action « *hormon-like* », plus précisément « *cortison-like* », et stimulent l'axe hypophyso-corticosurrénalien. Cet effet est très intéressant lors d'états inflammatoires prolongés ou de fatigue physique (2)(4)(6)(20).

- **Anti-infectieux** : ces actifs volatils sont aussi anti-infectieux et notamment antiseptiques atmosphériques (6). Ils peuvent être à la fois bactéricides, virucides et fongicides. Ils ont montré une bonne activité antimicrobienne contre certaines espèces parmi lesquelles : *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Streptococcus luteus* et *Staphylococcus aureus* (2)(27).

- **Décongestionnants** : les monoterpènes sont de bons expectorants et décongestionnants des systèmes respiratoire et lymphatique, c'est le cas de l'α-pinène et du β-pinène (4).
  Certaines de ces molécules stimulent les sécrétions digestives, intestinales et gastriques et permettraient aussi de stimuler la microcirculation digestive, c'est le cas du limonène, monoterpène le plus largement répandu (6).

- **Antalgiques** : certains monoterpènes présentent une action révulsive sur la peau, c'est à dire qu'ils ont la capacité de provoquer un afflux de sang et de réchauffer une partie du corps. Ce sont de bons antalgiques locaux, c'est le cas du para-cymène par exemple (2)(20). D'autres monoterpènes seraient de bons anti-inflammatoires (28).

- **Anti-tumorales et antioxydants** : des études menées avec le limonène entre autre, soulignent l'activité anti-tumorale de ces molécules sur des modèles *in vitro*. Des essais cliniques sur l'homme sont en cours. Certains monoterpènes pourraient ainsi inhiber la carcinogenèse à ses différents stades (initiation / promotion / progression) (24). Aussi, certains hydrocarbures monoterpéniques, comme le terpinolène, les α- et γ-terpinènes et le sabinène ont montré des activités protectrices intéressantes et seraient antioxydants (29). Il a été montré que ces molécules peuvent entrer en synergie avec d'autres molécules anti-oxydantes, notamment l'α-tocophérol, de sorte à protéger les lipides de l'oxydation (24).

- **En cardiologie :** quelques monoterpènes, étudiés *in vitro* et *in vivo*, ont également montré des effets cardio-vasculaires, notamment une vasorelaxation et une diminution de la fréquence cardiaque et de la pression artérielle. Ces molécules pourraient être intéressantes dans la prévention ou le traitement de maladies du système cardiovasculaire (30).

❖ **<u>Toxicités des monoterpènes</u>**

En usage externe prolongé, les monoterpènes et notamment l'α-pinène, sont dermocaustiques c'est à dire qu'ils sont irritants pour la peau et les muqueuses. Pour cette raison, les HE qui en contiennent ne peuvent pas être utilisées par voie cutanée sans être diluées au préalable. Cette dilution devra être d'au moins 50% dans une huile végétale (HV) pour éviter tout risque d'irritation. De plus, ces HE ne devront pas être utilisées de façon prolongée (6).

Certaines HE riches en composés monoterpéniques sont néphrotoxiques lorsqu'elles sont prises par voie orale sur une longue période, c'est le cas des HE de térébenthine et de rameaux de genévrier (20).

Ces composés monoterpéniques peuvent aussi présenter un risque allergique. En effet certains monoterpènes sont allergènes et susceptibles d'entrainer l'apparition de réactions plus ou moins sévères chez les personnes sensibles.

❖ **Structure de quelques monoterpènes** (Figure 6)

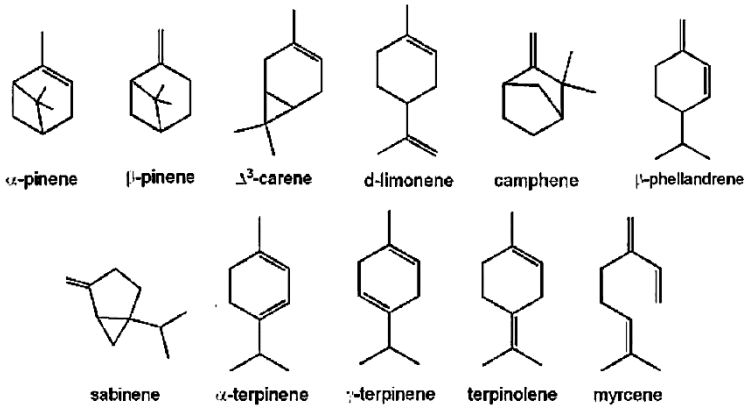


Figure 6. Structure moléculaire de quelques monoterpènes (31)

2.3.3.1.1.3.2. Les sesquiterpènes

❖ **Propriétés des sesquiterpènes**

Les carbures sesquiterpéniques sont des molécules intéressantes pour traiter les pathologies artérielles comme l'athérosclérose ainsi que les pathologies inflammatoires ou allergiques (4). Ils présentent des propriétés anti-inflammatoires et calmantes expliquées par leur action anti-hyper-α-globulinémique (2).

Le β-caryophyllène est l'anti-inflammatoire le plus courant, également ulcéroprotecteur, antifongique et bactéricide (3). L'humulène, aussi anti-inflammatoire, est intéressant dans les pathologies vasculaires.

Toutes ces molécules sont de bons décongestionnants veineux et lymphatiques et légèrement hypotenseurs (6)(20).

❖ **Toxicités des sesquiterpènes**

A faible dose les sesquiterpènes n'entrainent quasiment aucune toxicité et présentent une bonne tolérance cutanée (6). Toutefois il est possible que les HE qui en contiennent entrainent quelques irritations en raison de leur faible dermocausticité. Elles devront alors être utilisées diluées. Cette irritation est beaucoup moins marquée qu'avec les monoterpènes.

A noter aussi que les sesquiterpènes peuvent être à l'origine d'une néphrotoxicité (20).

❖ **Structure de quelques sesquiterpènes** (Figure 7)

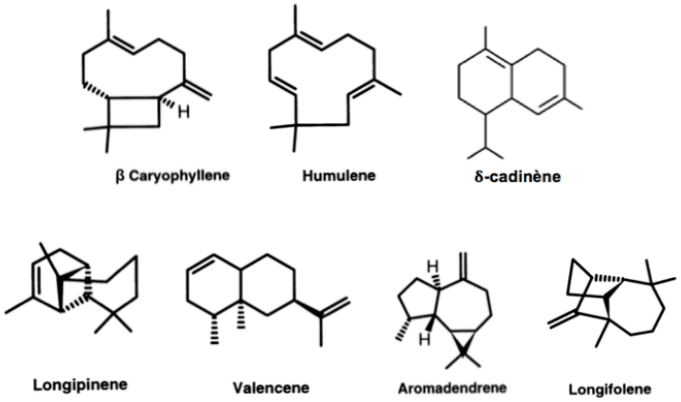


Figure 7. Structure moléculaire de quelques sesquiterpènes (26)

L'humulène ou α-caryophyllène, n'est autre qu'un isomère du β-caryophyllène (24).

2.3.3.1.1.3.3. Les diterpènes & triterpènes

Plus une molécule contient un nombre important de carbone dans sa structure, plus elle est « lourde » et donc plus il est difficile de l'extraire par la technique de distillation à la vapeur d'eau (6).

Les diterpènes (C_{20}) sont rarement présents dans les HE, on en retrouve parfois en faible quantité dans les HE de cyprès, de thuya et de mélèze. La présence des triterpènes (C_{30}) dans les HE est plutôt aléatoire.

2.3.3.1.2. Les dérivés du phénylpropane

La plupart des métabolites issus de la voie des phénylpropanes sont très importants en thérapeutique (acide salicylique, eugénol, lactones, méthyl-éthers, coumarines…). Ces composés aromatiques sont des molécules volatiles nettement moins fréquentes dans les HE que les composés terpéniques en général. Il existe tout de même quelques exceptions, c'est le cas de l'HE de clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*) constituée de 70 à 90 % d'eugénol.

2.3.3.1.2.1. Synthèse phénylpropanoïdique

Toutes les molécules dérivées du phénylpropane sont biosynthétisées à partir de l'acide shikimique (32). Cette voie que l'on retrouve uniquement chez les micro-organismes et les plantes aboutit à la synthèse de plusieurs familles de composés.

C'est le couplage de deux molécules, le phosphoénolpyruvate et l'érythrose-4-phosphate, qui forme un composé en C_7 dont la cyclisation conduit à l'acide-3-déhydroshikimique puis à l'acide shikimique (Figure 8).

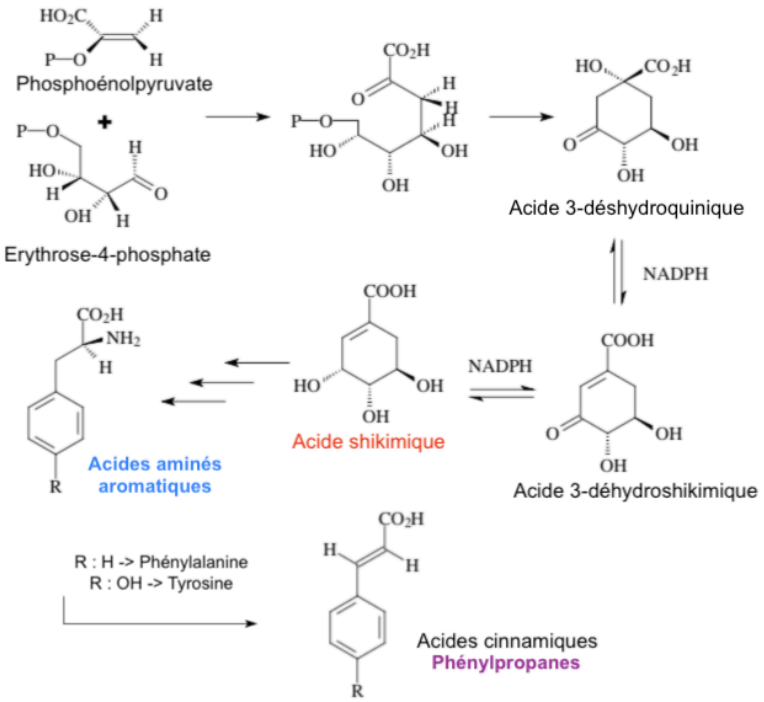


Figure 8. Synthèse des molécules dérivées du phénylpropane (33)

C'est à partir de l'acide shikimique que sont synthétisés les acides aminés aromatiques : tryptophane, tyrosine et phénylalanine.

Finalement c'est la phénylalanine qui est le précurseur général des phénylpropanoïdes. Cette molécule, transformée ensuite en acides cinnamiques, est à l'origine de la lignine - responsable de la formation des parois des cellules végétales - ainsi que d'autres constituants des HE comme des acides, lactones, méthyl-éthers, lignanes, coumarines ou encore anthocyanes, flavonoïdes, tanins et certains phénols… (6)(33).

2.3.3.1.2.2. Exemple de dérivés du phénylpropane

Afin d'illustrer cette famille biochimique, nous prendrons deux exemples : l'estragol et le trans-anéthol. Ces deux molécules sont deux phénols méthyl-éthers comme la plupart des molécules issues de cette voie de biosynthèse (6).

- **Propriétés de ces dérivés du phénylpropane**

Ces deux molécules sont d'importants antispasmodiques, de bon rééquilibrants nerveux. Ils sont aussi antalgiques, anti-inflammatoires, tonifiants, antiallergiques et antibactériens (3).

Le trans-anéthol possède également des propriétés « *œstrogen-like* » du fait de son analogie avec le diéthylstilbestrol ; il facilite l'accouchement, est emménagogue et galactogène. Il est aussi spasmolytique musculotrope, cardiorespiratoire et digestif (6).

- **Toxicités de ces dérivés du phénylpropane**

Ces deux molécules sont des composés bien tolérés par l'organisme. Cependant ils peuvent entrainer l'apparition de phénomènes réactionnels : allergie ou hypersensibilité.

Le trans-anéthol n'est toxique que pour des doses abusivement élevées (2).

Les HE qui contiennent de forte concentration en ces molécules sont contre-indiquées chez la femme enceinte et chez l'enfant de moins de 7 ans (6).

❖ **Structure de ces dérivés du phénylpropane**

L'estragol et le trans-anéthol possèdent un squelette commun aux autres molécules dérivées du phénylpropane. Ce squelette est composé d'un cycle aromatique à six carbones qui porte une chaine latérale à trois carbones en C_1, ainsi qu'un groupement oxygéné en C_3 et / ou en C_4 et / ou en C_5 (Figure 9) (34).

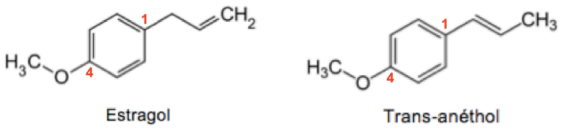


Figure 9. Structure moléculaire de deux dérivés du phénylpropane (26)

2.3.3.2. Les principales classes biochimiques

Les molécules terpéniques et dérivées du phénylpropane peuvent se restructurer et réagir avec des groupements chimiques différents, donnant naissance à des classes biochimiques bien distinctes. Chacune de ces classes possède d'autres propriétés et toxicités qui lui sont propres et que nous détaillons dans cette partie.

2.3.3.2.1. Les esters

❖ **Propriétés des esters**

Les esters sont des molécules volatiles actives. Ce sont de remarquables antispasmodiques. Cet effet est directement proportionnel au nombre d'atomes de carbone présent dans la molécule. Les HE riches en esters présentent des propriétés antispasmodiques neurotropes, musculotropes et possèdent des propriétés antalgiques et anti-inflammatoires intéressantes (4)(6).

Les esters sont également de bons sédatifs, anticonvulsivants, rééquilibrants nerveux et antidépresseurs psychiques doux (20).

Les esters sous forme d'acétate sont ceux que l'on rencontre dans les HE de conifères. Ils ont un tropisme vésiculaire marqué (6). Certaines de ces molécules, comme

l'acétate de bornyle, seraient de bons régulateurs cardiaques et anti-arythmiques, mais aucune étude approfondie n'a prouvé cette propriété (2). Cette molécule possède une action anti-inflammatoire et analgésique locale par action centrale et périphérique au niveau du système nerveux central (SNC). Elle présente également une activité spasmolytique très intéressante dans les cas de spasmes respiratoires (toux sèche et quinteuse) (3).

❖ Toxicités des esters

Les HE qui contiennent des esters terpéniques sont peu agressives et peu toxiques puisque ces molécules ne présentent pas de toxicité à faible dose. Néanmoins lorsqu'elles sont utilisées sur de longue période, les HE qui en contiennent peuvent être à l'origine d'un desséchement des téguments, c'est pour cette raison qu'elles doivent être diluées dans une HV (6).

A forte concentration, les esters sous forme d'acétate peuvent être épileptogènes. Les HE qui en contiennent ne doivent pas être utilisées chez les personnes épileptiques ou présentant des problèmes neurologiques (35).

❖ Structure des esters terpéniques

Les esters mono- et sesquiterpéniques sont des molécules respectivement à 10 et 15 atomes de carbone, qui contiennent un groupement ester carboxylique (–COO–). Leurs structures apparaissent ci-dessous (Figure 10).

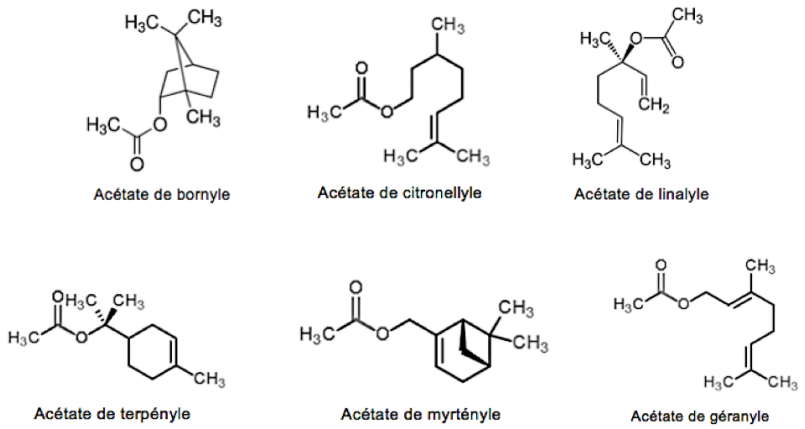


Figure 10. Structure moléculaire de quelques esters monoterpéniques (35)

2.3.3.2.2. Les phénols et terpénols

2.3.3.2.2.1. Les phénols

❖ **Propriétés des phénols**

Les phénols sont des anti-infectieux très puissants à large spectre. Ils possèdent une très forte activité bactéricide et sont aussi virucides, fongicides et antiparasitaires. Ils stimuleraient l'immunité, neutraliseraient les agents pathogènes tout en corrigeant les terrains favorables à leur développement (4)(6).

Ces molécules sont énergisantes et stimulantes du SNC. Elles sont aussi hyperthermisantes et hypertensives, toniques à faibles doses et excitantes à hautes doses (12)(20).

❖ **Toxicités des phénols**

Par voie externe, les HE qui contiennent des concentrations importantes de phénols sont dermocaustiques et peuvent entrainer d'importantes lésions au niveau de la peau et des muqueuses. Cela impose de toujours diluer ces HE dans une HV avant leur utilisation (4)(6).

Concernant la voie interne, ces HE peuvent être à l'origine d'œsophagite ou de gastrite en usage prolongée (14). Elles sont hépatotoxiques à haute dose ou lors d'administration prolongée par voie orale. Il sera conseillé d'y associer une HE hépatoprotectrice (carotte ou citron) (6).

❖ **Structure des phénols**

Les phénols dérivés des terpènes ou du phénylpropane contiennent un cycle aromatique comportant un groupement hydroxyle (–OH) (12) (Figure 11).

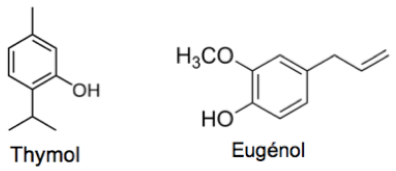


Figure 11. Structure moléculaire de deux phénols (6)

2.3.3.2.2.2. Les monoterpénols

❖ **Propriétés des monoterpénols**

En général les monoterpénols sont des molécules moins puissantes que les phénols, du fait de l'absence de noyau benzénique dans leur structure. Les monoterpénols sont donc de faibles anti-infectieux (35).

Ces molécules sont positivantes, stimulantes et neurotoniques. Elles sont aussi immunostimulantes, immunomodulantes, hyperthermisantes et hypertensives (2).

Par exemple le linalol est astringent et sédatif, le géraniol anti-infectieux, le citronellol insectifuge et l' α-terpinéol sédatif (6).

❖ **Toxicités des monoterpénols**

Les monoterpénols, moins puissants que les phénols, sont également moins dermo- et hépatotoxiques. En effet, ils ne sont que très peu agressifs pour la peau, les muqueuses et le foie. Ils peuvent tout de même être à l'origine d'allergies cutanées.

Aussi, certaines de ces molécules, comme le menthol, peuvent entrainer des spasmes respiratoires chez le nourrisson lorsque les HE sont appliquées sur les muqueuses nasales (6)(12).

❖ **Structure des monoterpénols**

Les alcools monoterpéniques sont des molécules qui contiennent un groupement hydroxyle (–OH) dans leur structure (12). Ces molécules possèdent les structures ci-dessous (Figure 12).

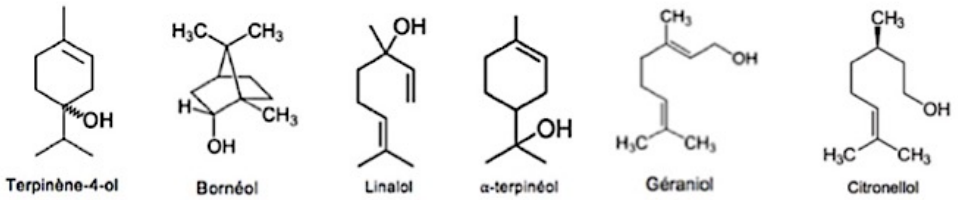


Figure 12. Structure moléculaire de quelques monoterpénols (26)

2.3.3.2.2.3. Les sesquiterpénols

❖ **Propriétés des sesquiterpénols**

Les sesquiterpénols ne sont pas anti-infectieux (sauf exception) mais sont de bons décongestionnants et régénérants veineux et lymphatiques. Ils possèdent des propriétés toniques, stimulantes et protecteurs cellulaires.

De plus, certaines de ces molécules sont dotées de propriétés « *hormon-like* » et notamment « *oestrogen-like* », c'est le cas par exemple du viridiflorol (4)(6).

❖ **Toxicités des sesquiterpénols**

Les sesquiterpénols ne possèdent qu'une très faible toxicité d'autant plus que ces molécules apparaissent en très petite quantité dans les HE. Toutefois, il conviendra d'être très vigilant quant à l'utilisation de ces HE chez les patients présentant des antécédents de pathologies hormono-dépendantes comme certains cancers (4)(6).

❖ **Structure des sesquiterpénols**

Les alcools sesquiterpéniques possèdent les structures ci-dessous (Figure 13).

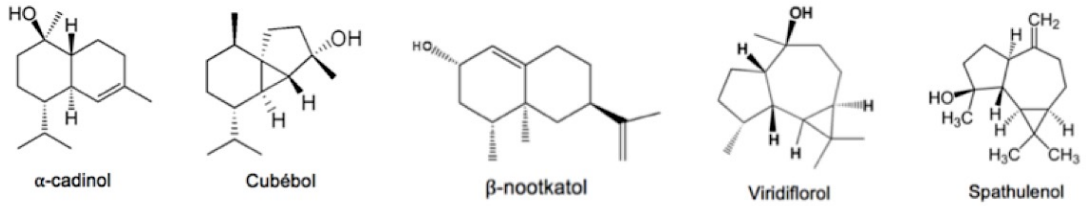


Figure 13. Structure moléculaire de quelques sesquiterpénols (6)

2.3.3.2.3. Les aldéhydes

❖ **Propriétés des aldéhydes**

Il existe deux types d'aldéhydes, les terpéniques et les aromatiques.

Les aldéhydes terpéniques présentent des propriétés cicatrisantes pour la peau, ils sont antalgiques et anti-inflammatoires (4)(20). Ces molécules sont plutôt calmantes et

sédatives du SNC par une action sur les neuromédiateurs, et leur odeur citronnée diminuerait les états de tension. Elles sont hypothermisantes, hypotensives et antiseptiques aériens. Elles favorisent la stimulation de certaines glandes exocrines permettant d'améliorer les fonctions digestives et hépatiques (6).

Contrairement à ces molécules terpéniques, les aldéhydes aromatiques possèdent des propriétés et des effets secondaires très semblables à ceux des phénols. Ce sont des anti-infectieux majeurs. Ces molécules sont également tonifiantes du SNC (4)(6).

- **Toxicités des aldéhydes**

Les aldéhydes non aromatiques ne présentent pas de toxicité majeure mais, au long cours, ils peuvent être irritants pour la peau et les muqueuses et entrainer des réactions érythémateuses. Ils sont aussi lacrymogènes et tussigènes (6).

Les HE qui en contiennent doivent être diluées à 50% dans une HV avant leur application cutanée (2). Il conviendra aussi de limiter l'emploi de ces HE chez les personnes ayant une peau fragile.

- **Structure des aldéhydes**

Les aldéhydes sont des molécules qui portent un groupement carbonyle (–C=O) sur un des carbone primaire de leur chaine carbonée. Ils possèdent une dénomination qui se termine en « -al ».

Les aldéhydes terpéniques possèdent les structures ci-dessous (Figure 14).

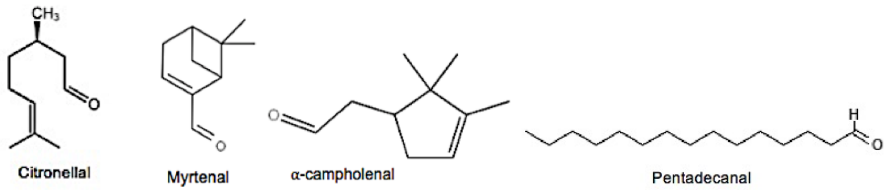


Figure 14. Structure moléculaire de quelques aldéhydes terpéniques (26)

Les aldéhydes aromatiques ont un cycle aromatique en plus dans leurs structures (Figure 15).

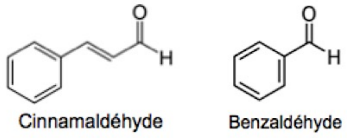


Figure 15. Structure moléculaire de quelques aldéhydes aromatiques (26)

2.3.3.2.4. Les cétones

❖ **Propriétés des cétones**

Les cétones sont des composés très actifs et délicats à manipuler qui possèdent de très nombreuses propriétés. Ils présentent un grand pouvoir cicatrisant et régénérant du tissu cutané et muqueux. Ils sont fluidifiants et permettent de dissoudre les mucosités de l'appareil respiratoire et génital féminin. Ils sont lipolytiques et anti-hyperlipidémiques. Certaines de ces molécules sont cholérétiques et cholagogues, d'autres sont anti-parasitaires (6). Même à de très faibles doses, les cétones possèdent des propriétés hypothermisantes, calmantes et sédatives (20).

Certaines de ces molécules présentent également une action antalgique et relaxante sur les fibres musculaires, c'est le cas du camphre qui est souvent utilisé pour soulager les contractures musculaires et les tendinites. Cette molécule est aussi un bon antiseptique pulmonaire et mucolytique, efficace dans le traitement de certaines pathologies respiratoires. D'autres sont plutôt anticoagulantes, anti-inflammatoires, antalgiques, cicatrisantes, c'est le cas des cétones contenues dans l'HE d'hélichryse (*Helichrysum italicum*) par exemple (6).

❖ **Toxicités des cétones**

Les HE riches en cétones présentent une toxicité pour les tissus nerveux immatures ou fragilisés. L'acétone par exemple, composé le plus simple de la famille des cétones, a un effet dissolvant toxique (6). A doses élevées, les cétones possèdent une action abortive et sont épileptisantes, stupéfiantes et neurotoxiques (20).

L'utilisation de ces HE par voie orale est formellement interdite chez le nourrisson, la femme enceinte et allaitante, la personne âgée ainsi qu'en cas de problème neurologique, d'insuffisance rénale ou hépatique. Ces HE ne doivent pas être utilisées en diffusion (4).

- **Structure des cétones**

Les cétones sont des molécules qui portent un groupement carbonyle (–C=O) sur un de leur carbone secondaire de leur chaine carbonée. Ils possèdent une dénomination avec un suffixe en « -one ». Les cétones possèdent les structures ci-dessous (Figure 16).

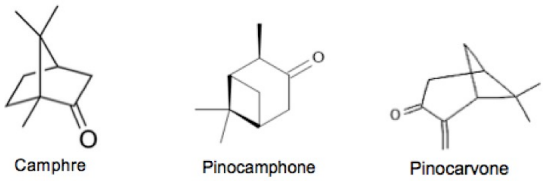


Figure 16. Structure moléculaire de trois cétones monoterpéniques (26)

2.3.3.2.5. Les acides

- **Propriétés des acides**

Les acides sont des molécules anti-inflammatoires très puissantes. Elles présentent également des propriétés antalgiques, hypotensives et hypothermisantes.
Des traces d'acides aromatiques et d'acides terpéniques sont très souvent retrouvées dans les HE, ces traces peuvent être très actives (6).

- **Toxicités des acides**

Certains acides sont nocifs par contact cutané et peuvent provoquer de sévères irritations des yeux et des voies respiratoires, c'est le cas de l'acide citronellique par exemple.

❖ **Structure des acides**

Les acides possèdent un groupe carboxylique au sein de leurs structures (–COOH). Les acides aromatiques possèdent les structures ci-dessous (Figure 17).

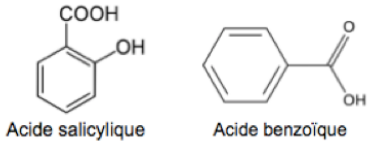


Figure 17. Structure moléculaire de deux acides aromatiques (6)

2.3.3.2.6. Les oxydes

❖ **Propriétés des oxydes**

Les éthers-oxydes sont biosynthétiquement issus des méthyl-éthers. Ces molécules sont antispasmodiques et antalgiques par voie externe et sont également tonifiantes et antibactériennes, antivirales et antiparasitaires. A dose trop élevée, ces molécules peuvent devenir des substances dopantes, stupéfiantes, abortives et peuvent entrainer des hallucinations (6).

Les oxydes terpéniques sont généralement très couramment rencontrés dans les HE (6). Ils sont tonifiants et stimuleraient les voies exocrines pulmonaires et digestives par voie orale (20). Ils sont expectorants, mucolytiques et décongestionnants broncho-pulmonaires. Ce sont aussi de bons toniques circulatoires, activateurs métaboliques, anti-inflammatoires ainsi qu'anti-infectieux et immuno-modulants (6).

Par exemple, les HE qui contiennent une concentration importante d'eucalyptol, comme l'HE d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), possèdent une odeur rafraichissante et ont une activité expectorante et mucolytique importante, permise par la stimulation des glandes exocrines. Elles sont aussi antibactériennes (surtout sur *Straphylococcus aureus*) et immuno-modulante (augmentation des β-γ-globulines) (6)(12).

❖ **Toxicités des oxydes**

Dans l'ensemble, les oxydes terpéniques sont peu toxiques. En cas d'emploi excessif, ces molécules peuvent être à l'origine de nausées et vomissements, de vertiges et de désorientations.

L'eucalyptol peut être irritant pour les voies respiratoires et peut aussi être épileptogène. Ces troubles ne sont à craindre que dans les cas de surdosage. Cependant, par précaution, les HE qui contiennent cette molécule en grande proportion sont contre-indiquées chez le patient asthmatique et épileptique (6).
De plus cette molécule est un inducteur de certaines enzymes hépatiques. Par conséquent, elle peut être à l'origine d'interactions avec certains médicaments (3).

❖ **Structure des oxydes**

Les oxydes sont des molécules possédant un atome d'oxygène central ($R\text{-}O\text{-}R_1$) dans leur structure. Le monoxyde le plus fréquemment retrouvé dans les HE en général est un dérivé des monoterpènes, il s'agit de l'eucalyptol ou 1,8-cinéole (Figure 18) (12).

Figure 18. Structure moléculaire d'un oxyde terpénique (6)

2.3.3.2.7. D'autres classes biochimiques…

D'autres molécules de classe biochimique différente peuvent être retrouvées, au sein des HE, en plus faible quantité. Leur rôle est très souvent limité, mais il est possible que ces composés minoritaires entrent en synergie avec les composés majoritaires et jouent sur les propriétés de l'HE (36).
Parmi ces classes biochimiques, citons par exemple les lactones, retrouvées très souvent à l'état de traces dans les HE ; les coumarines, très présentes dans les essences ; les phtalides et aussi d'autres composés azotés ou soufrés peu courants.

2.4. Analyse d'une HE par chromatographie

Une chromatographie est une méthode de séparation et d'analyse des molécules contenues dans un mélange. La chromatographie sur couche mince (CCM) ou la chromatographie en phase gazeuse (CPG) sont les deux méthodes qui peuvent être utilisées pour l'analyse d'une HE.

2.4.1. Chromatographie sur couche mince (CCM)

La CCM est une technique qui repose sur la migration des composés à analyser. Une phase stationnaire, sous la forme d'une couche mince et uniforme, est répandue sur un support (verre, métal ou plastique) et est placée au contact de l'éluant, solvant approprié et représentant la phase mobile. La solution à analyser est déposée au bas de la plaque, sur une ligne de dépôt (Figure 19) (37).

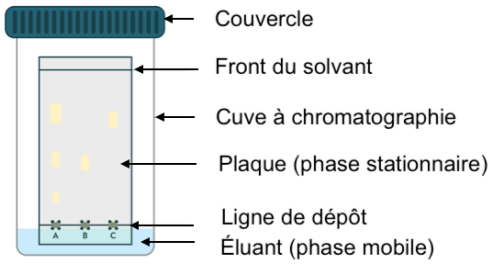


Figure 19. Schéma d'une chromatographie sur couche mince (38)

La phase mobile migre par capillarité tout au long de la phase stationnaire et entraine avec elle les constituants du mélange à analyser. Chacune des molécules migre à une hauteur précise, c'est ce qui permet de les identifier, on parle de migration différentielle.

2.4.2. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

En raison de leur grande volatilité, les HE sont préférentiellement analysées par CPG. Cette technique de séparation repose sur la distribution préférentielle des molécules entre deux phases non miscibles : une phase mobile constitué d'un gaz vecteur qui traverse une phase stationnaire contenue dans une colonne.

La CPG est principalement réservées aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés (39). C'est la technique d'analyse de référence pour l'analyse des HE puisqu'elle permet la détermination précise de sa composition chimique et est le seul moyen de déterminer son chémotype.

Afin de réaliser une CPG, un chromatographe est utilisé (Figure 20), il s'agit d'un appareil composé d'un système d'injection permettant l'introduction de l'échantillon à analyser, un four comportant une colonne capillaire dans laquelle passe le gaz vecteur et l'échantillon à analyser, ainsi qu'un système de détection qui mesure le signal émis par les molécules. La séparation des molécules repose sur leur migration différentielle au travers de la phase stationnaire choisi (40).

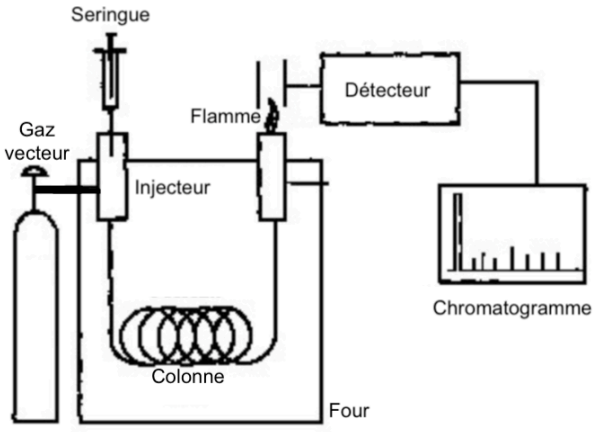


Figure 20. Schéma d'une chromatographie en phase gazeuse (41)

Une CPG est réalisée dans des conditions précises dans le but d'obtenir une estimation reproductible des teneurs en composés caractéristiques de l'échantillon (42).

À la sortie de la colonne, le gaz vecteur qui contient les molécules volatiles à analyser passe dans un détecteur très sensible, appelé FID (détecteur à ionisation de flamme), c'est le détecteur le plus souvent utilisé en CPG. La traversée d'une flamme 'air-hydrogène' provoque l'oxydation des molécules et la production d'ions chargés électriquement à l'origine d'un courant électrique. Des électrodes placées près de la flamme mesurent le courant électrique produit. Après amplification, le signal électrique est reporté sur un graphique appelé chromatogramme. Ce FID est très intéressant notamment pour l'analyse des HE puisque toutes les molécules du mélange produisent un signal électrique.

Finalement, le chromatogramme obtenu comporte toujours une série de pics plus ou moins nombreux. Chacun de ces pics représente une molécule bien spécifique et identifiée grâce à un logiciel. Un second appareil d'analyse est couplé au chromatographe, il s'agit d'un spectromètre de masse (SM), et permet de quantifier chacune des molécules afin d'obtenir la composition précise de l'HE (4).

2.5. Voies d'administration d'une HE

Une HE peut être administrée à l'Homme par différentes voies. Le choix de cette voie se fait en fonction de l'effet recherché mais aussi et surtout des potentielles toxicités de l'HE. Bien que d'origine naturelle, une HE peut être dangereuse pour la santé si elle n'est pas utilisée de façon appropriée (8).

Pour une utilisation sans risque de l'aromathérapie il faut sélectionner l'HE avec discernement suivant le profil du patient. La voie d'administration et la posologie doivent toujours être respectées scrupuleusement (43).

2.5.1. La voie interne

Cette voie d'administration est plutôt réservée à l'adulte et nécessite un avis médical ou pharmaceutique. Elle est intéressante dans certains troubles digestifs et dans les infections urinaire ou gynécologique par exemple. Cependant, certaines HE peuvent être très irritantes pour les muqueuses et responsables de brûlures ou d'allergie, c'est pour cette raison que ces HE ne doivent pas être utilisées pures.

- **La voie orale**

  Lorsqu'une HE est prise par voie orale, elle doit tout d'abord être diluée. Cette dilution se fait dans une HV alimentaire et est primordiale puisqu'elle permet d'éviter l'apparition d'évènements indésirables le long du tube digestif (7)(8)(43).

  L'utilisation pure d'une HE par voie orale doit rester exceptionnelle et spécifique, elle peut être préconisée lors de troubles hépato-digestifs. Dans ce cas, quelques

gouttes d'HE sont déposées dans du miel, du sirop d'érable ou sur un demi-sucre de canne, une mie de pain ou un comprimé neutre (3).

- **Les voies rectale & vaginale**
  Dans les cas ou la voie orale n'est pas envisageable (nausées, vomissements), une HE peut être administrée par voie rectale sous forme de suppositoire. Cette voie d'administration est surtout efficace pour traiter certaines infections broncho-pulmonaires et ORL puisqu'en raison de leur volatilité, les HE sont capables d'atteindre les alvéoles pulmonaires et d'être éliminées par les voies aériennes. L'administration d'HE par voie vaginale, sous forme d'ovule, peut aussi être envisagée pour soigner les affections gynécologiques. La muqueuse vaginale est très perméable, l'HE doit donc être en faible concentration dans un excipient neutre (3). Ces deux dernières voies d'administration sont réservées à la prescription médicale et les HE irritantes ou allergisantes doivent toujours être évitées (7).

2.5.2. La voie externe

Cette voie d'administration peut être utilisée pour une action locale au niveau de la peau (traitement d'un eczéma), ou pour une action systémique sur l'organisme entier (traitement d'un virus).

C'est la voie d'administration des HE la plus communément utilisée. La plupart des HE peut être appliquée en massage, cette application externe se fait généralement au niveau du dos, du plexus solaire, des tempes, de la nuque, de la plante des pieds, des poignets ou même de la paume des mains (7)(43).
De façon à limiter les risques d'irritation, il est conseillé de ne pas appliquer l'HE pure sur la peau mais de privilégier sa dilution dans une HV. Exceptionnellement certaines HE peuvent être appliquées pures, dans les cas de brûlure ou de piqure par exemple ; cet usage doit rester occasionnel et spécifique (3).

L'épiderme agit comme un filtre et, selon la localisation de l'application, l'HE pénètre dans les couches épidermiques en atteignant plus ou moins rapidement la circulation

sanguine, et se diffuse ensuite dans tout l'organisme. Lorsque cette voie est utilisée, trois paramètres très importants doivent être pris en compte : le pourcentage de dilution, la quantité totale appliquée sur le corps et le choix de la surface d'application de l'HE (3).

2.5.3. L'inhalation ou la diffusion

En raison de la grande volatilité des HE, la voie respiratoire est fréquemment utilisée pour leur administration et est très utile pour soulager les affections ORL ou pulmonaires (3). En pénétrant dans les voies respiratoires, les particules volatiles de l'HE sont captées par les chémorécepteurs de l'épithélium nasal puis l'information est transmise au centre de l'olfaction (7)(8).

- **L'inhalation**

  Ce terme désigne de manière générale l'absorption d'une substance par les voies respiratoires. L'inhalation d'une HE peut être sèche : quelques gouttes d'HE sont déposées sur un mouchoir qui est respiré en cas de besoin. Elle peut également être humide : quelques gouttes d'HE sont mises dans de l'eau chaude et la vapeur parfumée libérée est inhalée.

- **La diffusion**

  La diffusion atmosphérique permet quant à elle d'assainir une pièce ou de créer un « décor olfactif ». La meilleure technique est la micro-diffusion faite à partir d'un diffuseur électrique, car elle ne chauffe pas l'HE et donc les molécules la composant ne sont pas altérées, ses vertus sont ainsi conservées (43).

  Certaines HE sont bien adaptées pour être diffusées dans l'atmosphère, c'est le cas des HE de sapin et de pin qui sont de bons désinfectants pour la sphère ORL, les HE de bois de rose ou de géranium sont assainissantes, tandis que les HE de lavande vraie et d'orange douce sont plutôt relaxantes.

  Toutefois certaines HE ne conviennent pas à la diffusion. Aussi le patient asthmatique devra être très vigilant lors d'une telle utilisation (7)(8).

2.5.4. Le bain aromatique

Le bain aromatique procure détente et bien être puisqu'il a l'avantage d'avoir une double action : d'une part cutanée par le contact avec la peau et d'autre part atmosphérique avec la respiration.
Pour faciliter la dispersion des HE dans l'eau du bain, il faut utiliser un dispersant (base neutre) ayant un rôle de tensio-actif c'est à dire qu'il facilite l'étalement et le mouillage de l'HE. Ce dispersant peut être un gel douche, du savon ou du gros sel. Aussi pour éviter tout risque d'irritation cutanée, il est conseillé de ne pas utiliser plus de 10 gouttes d'HE par bain (43).

2.6. Précautions d'emploi d'une HE

Une HE est un mélange très concentré en éléments chimiques actifs et peut présenter certains dangers pour la santé si elle n'est pas utilisée correctement. Il existe des toxicités et des précautions d'emploi propres à chaque HE, ainsi que des interactions avec des médicaments ou des produits cosmétiques qu'il est important de prendre en compte (3)(20).

Une HE s'utilise généralement diluée, et pure à titre exceptionnel. Tout contact d'une HE avec les muqueuses ou les yeux est à éviter. Elle ne doit jamais être injectée (3).

Par principe de précaution, toutes les HE sont contre-indiquées chez la femme enceinte durant les trois premiers mois de grossesse. Elles sont à éviter le reste de la grossesse ainsi que chez la femme allaitante, chez l'enfant de moins de 7 ans et chez la personne asthmatique, allergique ou épileptique. Certaines HE ne doivent pas être utilisées chez le patient sous traitements anticancéreux ou anticoagulants, ou présentant des antécédents de cancers hormono-dépendants (43).

Une HE ne présente finalement que peu de danger si ses précautions d'emploi, sa voie d'administration et sa posologie sont bien respectées (11).

2.7. Conservation d'une HE

La durée de conservation des HE est de 5 ans en moyenne (11). Les HE doivent être conservées à l'abri de la chaleur (< 25°C) et de la lumière, dans un flacon opaque empêchant la modification biochimique de leur composition par les ultra-violets. Ce flacon doit aussi être étanche et bien refermé après chaque usage, en raison de la volatilité des HE (19).

3. Les hydrolats aromatiques (HA)

3.1. Définition & mode d'obtention d'un HA

Le mot « hydrolat » vient du latin « *hydro* - » signifiant eau, et du vieux français « - *lat* » désignant le lait, en effet cette substance présente un aspect laiteux.

D'après la Pharmacopée française, ces extraits sont des « *eaux distillées végétales, obtenues par entraînement à la vapeur d'eau de diverses parties de plantes, aromatiques ou non. Elles sont constituées par la vapeur d'eau re-condensée, et séparée de l'HE à la sortie de l'alambic après décantation. Dans le cas particulier de l'utilisation de fleurs comme matière première, on parle d'eaux distillées florales ou d'eaux florales* » (44).

Cette définition met en évidence le lien étroit entre les HE et les HA. Les HA sont également appelés « hydrosols » ou « aquaromes » et ne doivent pas être confondus avec les eaux aromatiques qui sont des mélanges d'eau, d'HE et d'alcool (6).

3.2. Composition chimique d'un HA

Un HA est chargé des molécules aromatiques hydrosolubles du végétal et contient une très faible quantité d'HE (0,1% à 1%).

En raison de la présence de principes actifs, un HA possède donc des effets thérapeutiques à peu près similaires, mais non identiques, à ceux des HE. En effet, un HA n'est pas forcément utilisé dans les mêmes indications que l'HE de la plante dont elle est issue (6).

3.3. Voie d'administration d'un HA

L'utilisation des HA est appelée hydrolathérapie et existe depuis très longtemps. Autrefois ces « eaux aux vertus magiques » étaient encore plus recherchés que les HE (6).

De nos jours, ces produits nettement moins célèbres que les HE, sont surtout connus pour leurs utilisations culinaires, comme parfum alimentaire. Ils présentent également de précieuses propriétés thérapeutiques et cosmétiques et il est souvent intéressant de combiner leur utilisation avec d'autres thérapies complémentaires. Les HA ont de plus en plus leur place auprès du grand public et des industriels.

- **La voie externe**
  C'est notamment dans le domaine de la cosmétologie que l'hydrolathérapie s'est beaucoup développée ces dernières années. En effet, très doux et bien tolérés par la peau et les muqueuses, les HA sont utilisés afin de soulager un grand nombre de problèmes dermatologiques. Leur utilisation cosmétique constitue très certainement l'une de leurs principales indications. On les retrouve notamment sous forme de lotion pour le visage, les cheveux ou le corps (44).

- **La voie interne**
  Faiblement concentrés en molécules potentiellement irritantes, les HA peuvent être administrés par voie orale, purs ou dilués dans un peu d'eau. Cette voie d'administration est souvent utilisée pour réduire les spasmes digestifs, rééquilibrer le tractus digestif, pour des cures de drainage ou encore pour stimuler les défenses immunitaires d'une personne (6).

3.4. Précaution d'emploi d'un HA

Les HA ont l'avantage de ne pas présenter de contre-indication ni d'interaction médicamenteuse. Cependant, en cas d'allergies à une HE, il conviendra de veiller à ne pas utiliser l'hydrolat correspondant à la même plante (3).

Il est également préférable d'éviter leur utilisation chez l'enfant de moins de 3 ans, la femme enceinte ou allaitante, la personne âgée ainsi que la personne ayant des antécédents de convulsions (44).

3.5. Conservation d'un HA

Les HA sont beaucoup plus fragiles que les HE. Leur bonne conservation est un facteur de stabilité et donc de sécurité. Ainsi, afin d'éviter leur dégradation ou leur perte d'activité, il est recommandé de les conserver dans des flacons en verre ambré à l'abri de la lumière, à des températures comprises entre 4 et 25°C - certains se conservent beaucoup mieux au réfrigérateur après leur ouverture - et dans un endroit propre car ces produits sont très sensibles aux proliférations bactériennes et fongiques (44).

Non entamé un HA possède une durée de vie d'environ 1 an. Il sera bon de l'utiliser dans les 3 mois qui suivent son ouverture en raison de son oxydation très rapide au contact de l'air (6).

PARTIE 2.

Les conifères et leurs HE

Étude de quelques HE issues d'aiguilles de conifères du massif du Jura

1. Production d'HE de conifères du massif Jurassien

1.1. Présentation du contexte

1.1.1. Présentation d'Aromacomtois

1.1.1.1. Sa création

Aromacomtois (Figure 21) est une petite entreprise située dans la région Bourgogne Franche-Comté, dans le département du Doubs, plus précisément à Amancey, petit village en bordure des vallées de la Loue et du Lison. Elle a été créée en Juillet 2017 par trois amis : Grégory Haye, Olivier Tissot et Pierre Gavignon (45).

Aromacomtois

Figure 21. Logo de la société Aromacomtois (45)

1.1.1.2. Ses fondateurs

C'est après avoir suivi une reconversion professionnelle que l'ingénieur Grégory Haye est devenu agriculteur avec l'idée de produire des HE à partir des conifères du massif Jurassien. Deux personnes l'accompagnent dans son projet : Olivier Tissot pharmacien d'officine spécialisé dans la phytothérapie et l'aromathérapie, et Pierre Gavignon ingénieur à l'origine de la création de l'alambic d'Aromacomtois.

1.1.1.3. Ses objectifs

Aromacomtois a été créée dans le but de donner une « seconde vie » aux conifères des montagnes du Jura après leur abatage ou leur destruction après une tempête, par exemple. C'est une société à responsabilité limitée (SARL) spécialisée dans le secteur d'activité de la fabrication d'HE. Son objectif principal est de produire des HE bio provenant de résineux du massif Jurassien ainsi que d'autres produits transformés à partir de ces HE comme des confiseries, des cosmétiques ou encore des

parfums d'ambiance (46). Ces productions sont intéressantes puisqu'elles permettent d'obtenir des produits finis locaux et de qualité.

Ces produits à base d'HE de résineux sont très utilisés dans les pays scandinaves en raison de leurs riches ressources naturelles. En France cette production est très faible aujourd'hui. L'immense forêt de résineux de Bourgogne Franche-Comté permettrait de développer cette production alors qu'il n'existait encore aucun fabriquant dans cette région (46).

1.1.2. Présentation du massif du Jura

1.1.2.1. Sa situation

Le Jura est une chaine de montagnes située en Europe occidentale, au nord-ouest des Alpes, et plus précisément le long de la frontière entre la France et la Suisse. En forme de croissant (Figure 22), ce massif s'étend au nord vers l'Alsace et au sud vers les plaines et piémonts alpins. A l'ouest, le Jura est délimité par la vallée de la Saône, la Bresse et la Dombes, et à l'est par le plateau Suisse, qui le sépare des Alpes (47).

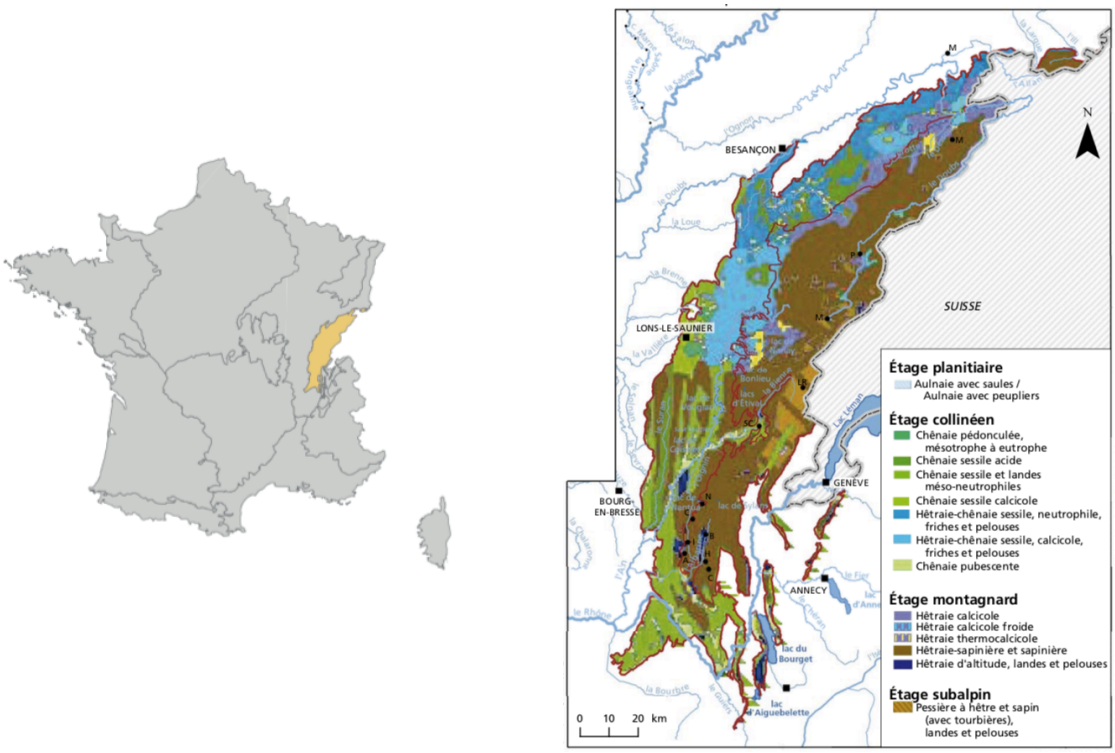


Figure 22. Délimitation et végétation du massif Jurassien (47)

1.1.2.2. Son climat

Très pluvieux et avec de nombreuses variations liées à l'exposition et à l'altitude, le climat du massif du Jura est plutôt continental à influence montagnarde. Il est également caractérisé par de fréquentes gelées et d'abondantes précipitations notamment en Automne, en début d'Hiver et en fin de Printemps. En moyenne, la température annuelle dans le massif est comprise entre 7,9 et 10,3°C (47).

1.1.2.3. Son boisement

Les terrains dans le massif Jurassien sont calcaires et marneux et le taux de boisement est relativement élevé et dépasse 50% (47).

L'altitude dans ce massif est comprise entre 500 mètres dans les vallées, et 1 700 mètres pour le point culminant. Sur ses plateaux calcaires se mélangent les feuillus tels que les chênes, les charmes, les hêtres, les frênes ou encore les tilleuls. Dans ses montagnes, ce sont plutôt les hêtraies-sapinières et les sapinières qui constituent la majorité des forêts. Une surface très importante est également couverte par l'épicéa commun (Figure 23)(47)(48).

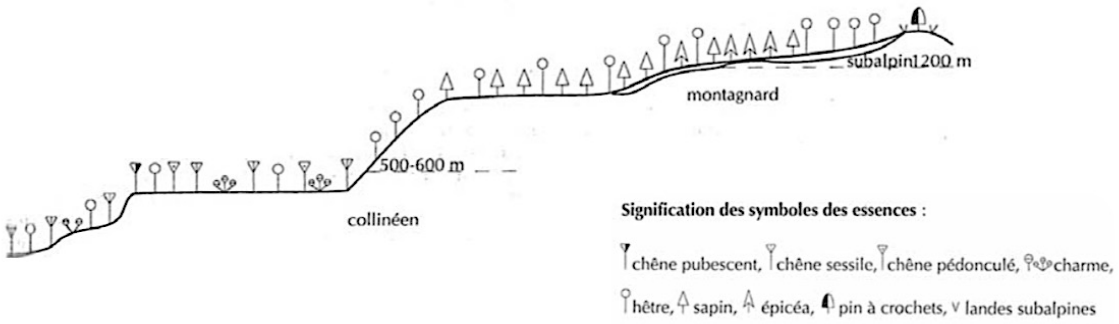


Figure 23. Boisement du massif du Jura (47)

C'est grâce à cette richesse écologique et l'envie de préserver cet environnement, que les trois hommes ont eu l'idée de se lancer dans ce projet de production d'HE de conifères du massif Jurassien.

1.1.3. Présentation des conifères

1.1.3.1. Taxonomie

Les conifères sont des arbres forestiers que l'on retrouve principalement dans les montagnes de l'hémisphère nord. Ce sont des gymnospermes (du grec « *gumnos* » qui signifie nu, et « *sperma* » graine), c'est à dire que leurs ovules sont nus, à la différence des angiospermes pour lesquels les ovules sont enfermés dans un ovaire. Les ovules des gymnospermes sont portés par des écailles planes dites ovulifères ou séminales (49)(50). Les gymnospermes sont toutes ligneuses, le bois constituant leur principal matériau de structure. Et, à cycle de développement s'étalant sur plusieurs années, leur longévité peut être très élevée.

Ces plantes à ovules nus sont divisées en deux clades (Figure 24), celui des gymnospermes archaïques regroupant les classes des *CYCADOPSIDES* et des *GINKGOOPSIDES* et celui qui réunit les classes des *PINOPSIDES* (ou conifères) et des *GNETOPSIDES*.

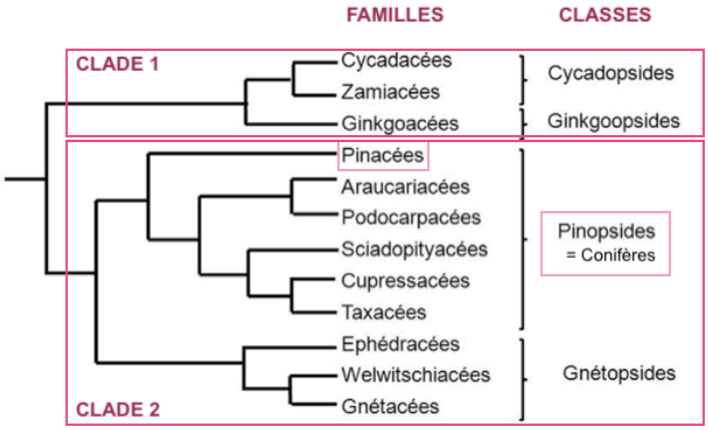


Figure 24. Classification des familles de gymnospermes (49)

La classe des *PINOPSIDES* regroupe la plupart des gymnospermes et est représentée, à l'heure actuelle, par environ 500 espèces réparties en 6 familles. Cette classe est également appelée la classe des « conifères » (du latin « *conus* » cône, et « *fero* » je porte) en raison des ''inflorescences'' femelles qui ont l'aspect d'un cône constitué d'écailles, entre lesquelles se trouvent les graines à maturité. Ces conifères ont tous un port conique caractéristique (49)(51).

Pour le travail qui suit, ce sont le sapin blanc, l'épicéa commun, le pin sylvestre et le sapin de Douglas qui nous intéresseront. Ces quatre conifères appartiennent à la famille des *PINACEAE*.

1.1.3.2. La famille des *PINACEAE*

1.1.3.2.1. Présentation

Tous les *PINACEAE* sont sempervirents, ce qui signifie que leurs feuilles, sous formes d'aiguilles pour la plupart, sont présentes tout au long de l'année (à l'exception du mélèze dont les feuilles sont caduques). Ces arbres sont résineux et aromatiques, c'est à dire qu'ils contiennent de la résine et possèdent une odeur caractéristique.

On retrouve la grande majorité des *PINACEAE* dans l'hémisphère nord. Certains d'entre eux peuvent atteindre jusqu'à 100 mètres de hauteur et d'autres peuvent vivre jusqu'à 5 000 ans, record de longévité dans le monde végétale (51)(52).

1.1.3.2.2. Classification systématique

La famille des *PINACEAE* regroupe un peu plus de 200 espèces réparties en 11 genres classés au sein de 4 sous-familles. Certains genres comprennent de nombreuses espèces (genre *Pinus*), alors que d'autres n'en comptent qu'une seule (genre *Pseudolarix*) (52).

- Sous-famille des ***PINOIDEAE***
  - Genre ***Pinus***, regroupe les pins, c'est le plus riche et le plus primitif de la classification
- Sous-famille des ***PICEOIDEAE***
  - Genre ***Picea***, comprend les épicéas
- Sous-famille des ***LARICIOIDEAE***
  - Genre *Larix*, regroupe 10 espèces dont certains mélèzes
  - Genre ***Pseudotsuga***
- Sous-famille des ***ABIETOIDEAE***
  - Genre ***Abies***, regroupe les sapins
  - Genre *Cedrus*
  - Genre *Pseudolarix*
  - Genre *Tsuga*
  - Genre *Keteleeria*
  - Genre *Cathaya*
  - Genre *Nothotsuga*

1.2. Les étapes nécessaires à la production des HE

1.2.1. Étape 1 - Identification et récolte de la matière première

Afin de produire des HE d'aiguilles de conifères, la première étape repose sur l'identification des espèces de résineux sur le terrain, c'est à dire dans les forêts du massif du Jura. La récolte des quatre espèces qui nous intéressent a débuté au mois d'Octobre 2017 et s'est étendu sur 1 an.

1.2.1.1. Identification des espèces de conifère

Beaucoup de résineux sont identifiés en forêt. Dans le cadre de ce travail de thèse, nous nous intéressons à seulement quatre d'entre eux. Il s'agit du sapin blanc (*Abies alba*) et de l'épicéa (*Picea abies*) - les deux espèces de conifères les plus nombreuses dans le massif Jurassien - ainsi que du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) et du sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*).

1.2.1.1.1. Le sapin blanc

- **Classification et habitat**

De son nom latin *Abies alba*, le sapin blanc également appelé sapin pectiné, sapin argenté, sapin commun, sapin des Vosges ou plus communément sapin, est un conifère de la famille des *PINACEAE*, de la sous-famile des *ABIETOIDEAE*, et fait partie du genre *Abies*.

Il est très présent dans l'hémisphère nord notamment en Europe ; le sapin blanc est l'une des espèces d'arbre les plus répandues en Europe centrale et c'est le principal résineux de l'Europe centrale et méridionale. C'est effectivement l'espèce de résineux que l'on rencontre le plus dans le massif Jurassien. Une forêt de sapins est une sapinière.

Ce conifère se développe dans les massifs montagneux des régions tempérées ou froides ; environ 70% des sapins pectinés poussent entre 600 et 1 200 mètres

d'altitude. Cette espèce préfère les situations ombragées. En conditions optimales, le sapin peut vivre jusqu'à 600 ans (53)(54).

- **Description botanique**

Très imposant, le sapin est un grand résineux qui peut atteindre des hauteurs comprises entre 30 et 50 mètres, et son tronc peut faire jusqu'à 2 mètres de diamètre.
Cet arbre forestier se reconnaît par le port droit et la couleur argentée de son tronc. Sa cime est conique et pointue chez le jeune sapin (Figure 25), elle s'arrondie en dôme avec le temps. Sur les arbres âgés, les branches sont absentes dans la partie basse du tronc, sur les autres elles sont étalées horizontalement.

Figure 25. Allure du sapin blanc (55)

Ses feuilles sont des aiguilles aplaties et non piquantes, mesurant entre 1,5 et 3 cm de long, et nettement discolores. Elles sont vertes foncées et luisantes sur leur face supérieure alors que leur face inférieure, d'un vert plus clair, est marquée de deux nervures blanches caractéristiques (Figure 26), c'est ce qui lui a donné son nom de sapin ''blanc''. Ces aiguilles sont insérées sur le rameau par une base en forme de disque, elles sont persistantes c'est pourquoi le sapin est vert tout au long de l'année.

Figure 26. Aiguilles de sapin blanc (face supérieure / face inférieure)

Son écorce riche en résine est lisse pendant très longtemps puis devient craquelée avec le temps (51)(53).

Le sapin blanc est un arbre monoïque, c'est à dire qu'un même arbre possède à la fois des ''fleurs'' mâles et des ''fleurs'' femelles. Sa floraison a lieu au printemps, en avril et mai. Les ''fleurs'' mâles, situées sous les rameaux, sont de petits cônes ovoïdes jaunes vifs et mesurant seulement quelques millimètres. Les inflorescences femelles sont plus charnues et situées au dessus des rameaux, elles sont vertes et donneront des cônes plus connus sous le nom de pomme de pin. Les cônes du sapin blanc sont cylindriques et sont dressés sur les branches, ils peuvent mesurer de 12 à 20 cm de long. Lorsqu'ils arrivent à maturité ils forment des graines ailées qui se libèrent tandis que les écailles se détachent une à une.

1.2.1.1.2. L'épicéa commun

- **Classification et habitat**

L'épicéa commun *Picea abies*, est un résineux de la famille des *PINACEAE*, de la sous-famille des *PICEOIDEAE* et du genre *Picea*. Il possède plusieurs noms vernaculaires comme sapin de Norvège, pesse, sérente, pin pleureur, sapin à poix, sapin rouge, sapin du nord, sapinette, ou encore gentil sapin et épinette de Norvège (48). Ce conifère originaire d'Europe peut être cultivé. Une forêt uniquement composée d'épicéas est appelée une pessière.

On retrouve l'épicéa commun en très grand nombre dans les montagnes européennes et notamment dans les sols calcaires du Jura, là où la roche peu profonde et la terre de faible épaisseur permettent son enracinement. L'épicéa s'adapte à tous types de sols, humides, frais, bien aérés et même les tourbières. On peut le retrouver à 2 000 mètres d'altitude. En montagne, cette espèce peut vivre jusqu'à 400 ans (56).

- **Description botanique**

L'épicéa est caractérisé par sa ressemblance avec le sapin blanc (Figure 27), cependant l'épicéa possède un contact poisseux et ses cônes sont allongés, pointus et pendants, c'est ce qui permet de les distinguer (56).

Figure 27. Allure de l'épicéa (55)

L'épicéa commun est un arbre résineux qui peut atteindre de grande hauteur, il mesure généralement de 35 à 50 mètres de hauteur, son tronc ne mesure jamais plus de 1,5 mètres de diamètre. Ses branches sont étalées horizontalement dès la base du tronc, et sa cime est toujours pointue.

Les aiguilles de l'épicéa commun sont fines et vertes foncées sur les deux faces. Elles sont insérées tout autour du rameau et se terminent par une pointe peu piquante (Figure 28). Elles sont persistantes tout au long de l'année, c'est pourquoi l'épicéa est toujours vert (51).

Figure 28. Disposition des aiguilles d'épicéa

L'écorce de l'épicéa est riche en résine et est plutôt rougeâtre. Cette écorce devient plus épaisse et irrégulière avec le temps. Le bois de l'épicéa est blanc, résistant et possède une odeur de résine (56).

Comme le sapin blanc, l'épicéa commun est un arbre monoïque. Ses ''fleurs'' mâles sont de petits cônes globuleux et jaune qui répandent un pollen abondant. Les ''inflorescences'' femelles sont des cônes charnus et dressés, qui murissent avant les

‘‘fleurs’’ mâles. Les cônes sont pendants, résineux, cylindriques et mesurent de 12 à 20 cm de long (56).

1.2.1.1.3. Le pin sylvestre

- **Classification et habitat**

Le pin sylvestre, en latin *Pinus sylvestris*, est connu sous différents noms vernaculaires comme pin sauvage, pin du nord, sapin rouge du nord, pin commun, pin de Genève, pin d’Écosse et pin d’Auvergne. Comme le sapin et l’épicéa, il fait partie de la famille des *PINACEAE* mais appartient à la sous-famille des *PINOIDEAE* et au genre *Pinus.*
Ce résineux originaire des zones montagneuses d’Europe et du nord-ouest de l’Asie se retrouve davantage sur les sols acides, ni trop secs ni trop humides de l’hémisphère nord. Il s’accommode de conditions de sols médiocre et est très résistant au froid et à la chaleur (48)(57). Une forêt de pin est appelée une pinède.

- **Description botanique**

Comme la plupart des conifères, le pin sylvestre possède une grande longévité et peut atteindre 40 à 50 mètres de hauteur (Figure 29). Cet arbre se caractérise par la couleur toujours verte claire de ses aiguilles et la couleur rouge brique de son écorce et de ses branches (58).

Figure 29. Allure du pin sylvestre (55)

Ses aiguilles mesurent de 4 à 8 cm de longueur et sont souples, légèrement vrillées et pointues mais non piquantes. Elles sont réunies en faisceaux par deux (Figure 30) (51).

Figure 30. Disposition des aiguilles et des cônes du pin sylvestre (55)

L'écorce des pins sylvestre est brun-rouge et est craquelée en larges écailles (59)(60).

Comme tous les pins, le pin sylvestre est un arbre monoïque. Sa floraison a lieu au printemps avec l'apparition des organes reproducteurs mâles sur les rameaux, sous forme de petits cônes pointus regroupés en épis jaunes qui libèrent beaucoup de pollen. Les ''inflorescences'' femelles possèdent une structure plus complexe et rougeâtre, ce sont de petits cônes charnus et globuleux qui mesurent entre 5 et 10 mm. Les cônes sont brun-jaune et peuvent être dressés, pendants ou latéraux et ne persistent jamais très longtemps sur l'arbre. Ils sont de forme allongés et font en général 3 à 6 cm de long (51).

1.2.1.1.4. Le sapin de Douglas

- **Classification et habitat**

Son nom latin est *Pseudotsuga menziesii*. Cet arbre de la famille des *PINACEAE* et de la sous-famille des *LARICIOIDEAE* est aussi appelé Douglas, sapin rouge ou pin d'Oregon. Cette espèce possède deux variétés : la variété côtière ou Douglas vert (var. *menziessi*) et la variété d'altitude ou Douglas bleu (var. *glauca*). La division entre ces deux variétés n'est pas clairement définie (50).

Originaire d'Amérique du nord, ce conifère a été introduit en France en 1827 par Douglas, et s'est beaucoup répandu en Europe, notamment dans les régions forestières tempérées. Le Douglas supporte assez bien les sécheresses estivales et les grands froids hivernaux. Il se plait surtout sur les sols acides et profonds, bien drainés et humides. Ce résineux peut vivre jusqu'à 500 ans et atteindre 50 mètres de haut (61).

- **Description botanique**

Le sapin de Douglas est toujours vert et présente un port conique caractéristique avec un tronc droit et des branches étalées à la base et redressées à leur extrémité (Figure 31) (62).

Figure 31. Allure du sapin de Douglas (55)

Ses aiguilles, de 2 à 4 cm, sont molles et non piquantes, et sont insérées tout autour du rameau sur un coussinet saillant. Elles sont aplaties et présentent deux lignes blanches (parfois peu marquées) sur leur face inférieure. Leur face supérieure est parcourue d'un sillon. Elles possèdent une odeur caractéristique d'agrume ou de citronnelle (Figure 32)(51).

Figure 32. Cône et aiguilles du sapin de Douglas (63)

L'écorce de ce conifère est d'abord verdâtre et lisse avec beaucoup de pustules de résine. Elle devient marron-rouge et très crevassée avec le temps.

Le Douglas est également un arbre monoïque. Sa floraison a lieu au printemps. Ses ''fleurs'' mâles sont globuleuses et de couleur jaune, ses ''fleurs'' femelles sont allongées, dressées et violacées. Ses cônes sont pendants et peuvent mesurer de 5 à 8 cm (64).

1.2.1.2. Récolte de la matière première

1.2.1.2.1. La drogue végétale

Après l'identification des quatre espèces, vient le temps de récolter la matière première, ou drogue végétale, qui sera utilisée pour les distillations. La partie de plante choisie pour la production d'HE de conifères du massif Jurassien est l'aiguille (45).

D'après la Pharmacopée française, le sapin argenté *Abies alba* appartient à la Liste A des plantes médicinales ; les parties de plante qui sont utilisées en médecine traditionnelle européenne et d'outre-mer sont le bourgeon, la térébenthine dite « d'Alsace » et la térébenthine dite « des Vosges ». Le pin sylvestre *Pinus sylvestris* est également inscrit sur cette Liste A ; les parties de plante utilisées peuvent être le bourgeon ou le rameau (9). L'épicéa commun et le sapin de Douglas ne sont pas répertoriés à la Pharmacopée.

1.2.1.2.2. La cueillette sauvage

Afin de pouvoir récolter la matière première dans les forêts, Aromacomtois a établi un partenariat avec l'office national des forêts (ONF) et travaille au côté des bûcherons. Les aiguilles ne sont pas récoltées directement sur les conifères encore implantés, mais plutôt sur ceux à terre, coupés et mis de côté par les bûcherons pour des raisons de gestion forestière ou d'exploitation du bois ; il s'agit par exemple, d'arbres venant d'être détruits après une tempête ou abattus en raison de leur âge, de leur emplacement, ou de leur port menaçant de tomber. Lorsque ces coupes sont prévues, Aromacomtois est rapidement informé par l'ONF, et se rend sur place pour faire un repérage des parcelles, tout en vérifiant la bonne accessibilité des lieux.

La récolte des branches d'aiguilles de conifères est réalisée à la main au sécateur électrique. Cette cueillette sauvage est faite méthodiquement et méticuleusement, de façon à récolter beaucoup d'aiguilles et peu de bois. L'objectif final est de produire des HE issues principalement des aiguilles des conifères (Tableau I).

Tableau I. Avantages et inconvénients de travailler avec les aiguilles de conifères

Avantages	Inconvénients
- Les aiguilles de résineux sont très reconnaissables d'une espèce à une autre, il est aisé de les récolter sans les mélanger. - Bien que les aiguilles se renouvellent chaque année, certaines peuvent persister sur un même arbre pendant 2 à 8 ans. Il est alors possible de choisir des pousses plus ou moins jeunes pour la réalisation des distillations. Cela n'est pas réalisable lorsque ce sont les bois, les écorces ou les racines qui sont utilisés comme matière première (17).	- Les résineux sont des arbres qui contiennent beaucoup de résine en leurs bois et leurs écorces, notamment la térébenthine. Après sa distillation, la térébenthine se sépare en deux phases, l'une est solide et inodore (colophane), alors que l'autre est liquide et odorante et est appelée essence de térébenthine (65). Aromacomtois recherche à éviter la présence de cette essence dans ses productions d'HE issues d'aiguilles.

Une fois cueillis, les rameaux récoltés sont répartis par espèce et regroupés en plusieurs paquets appelés fagots (Figure 33), de 12 kg en moyenne.

Figure 33. Quatre fagots de sapin blanc

Les récoltes ont lieux à différents endroits dans le massif Jurassien. La zone de récolte s'étend en France dans le département du Doubs, notamment à Amancey, L'Hôpital-du-Grosbois, Morre, Rouhe, Bolandoz, Déservillers, Alaise, Chantrans, Saraz et Levier. Chacun de ces lieux correspond à un type de milieu biologique défini par des caractéristiques physiques et chimiques particulières (biotope).

1.2.1.2.3. La récolte moyenne

En moyenne en une journée dans la forêt, de 500 kg à 1 tonne d'aiguilles sont récoltées. Cette quantité varie d'une fois à l'autre compte tenu de l'impact que peut avoir l'accessibilité du terrain sur les récoltes. Sur la période d'Octobre 2017 à Octobre 2018 quasiment 35 tonnes de matières premières ont été ramassées.

1.2.2. Etape 2 - De la matière première à l'HE

Après sa récolte, la matière première est conservée au sec à la distillerie puis est broyée et placée dans un alambic afin de procéder à sa distillation. Le procédé utilisé par Aromacomtois est l'hydro-distillation ou distillation par entrainement à la vapeur d'eau. Comme vu dans la première partie de ce travail, il s'agit de la technique d'extraction des molécules aromatiques la plus courante pour l'obtention d'une HE (7).

1.2.2.1. Broyage de la matière première

Les aiguilles de nombreuses espèces de conifères ont besoin d'être réduites en petits morceaux avant leur distillation afin d'assurer la libération de l'HE dans des délais raisonnables de distillation (17). C'est pour cette raison qu'avant d'être placés dans l'alambic, les fagots de matière première sont broyés.

1.2.2.2. Distillation des aiguilles

1.2.2.2.1. Présentation de l'alambic

Pour la réalisation des distillations, Aromacomtois s'est équipé d'un alambic particulier et unique. L'appareil, très imposant, a été fait sur mesure spécialement pour la société. Cet alambic horizontal est uniquement constitué d'inox alimentaire et est composé de plusieurs parties bien distinctes (Figure 34) : une chaudière à granulés, un ballon d'eau chaude, une cuve percée et un essencier.

Figure 34. Alambic horizontal d'Aromacomtois

1.2.2.2.2. Mise dans l'alambic

Une fois broyée, la matière première est tassée dans la cuve percée de petits trous (Figure 35). Au total cette cuve peut contenir environ 420 kg d'aiguilles broyées.

Figure 35. Cuve percée vide / Cuve percée contenant les aiguilles broyées

1.2.2.2.3. Fonctionnement de l'alambic

La chaudière alimentée aux granulés de résineux, provenant aussi de la région (Levier), permet la production de chaleur. Une fois que la température dans l'appareil atteint 100°C, l'eau contenue dans le ballon se transforme en vapeur à un débit de

120 kg/heure. Cette vapeur est entrainée jusqu'au panier rempli d'aiguilles. Elle passe dans la cuve percée et traverse la matière végétale, entrainant avec elle les molécules aromatiques contenues au sein du végétal, elle se charge ainsi en HE. Une fois qu'elle arrive sur la partie supérieure de la cuve, elle retombe sur les côtés et arrive sur les échangeurs chargés en eau froide. Au contact de cette matière froide, la vapeur se condense. Au final l'HE et l'HA sont récupérés dans un essencier en fin d'alambic (Figure 36).

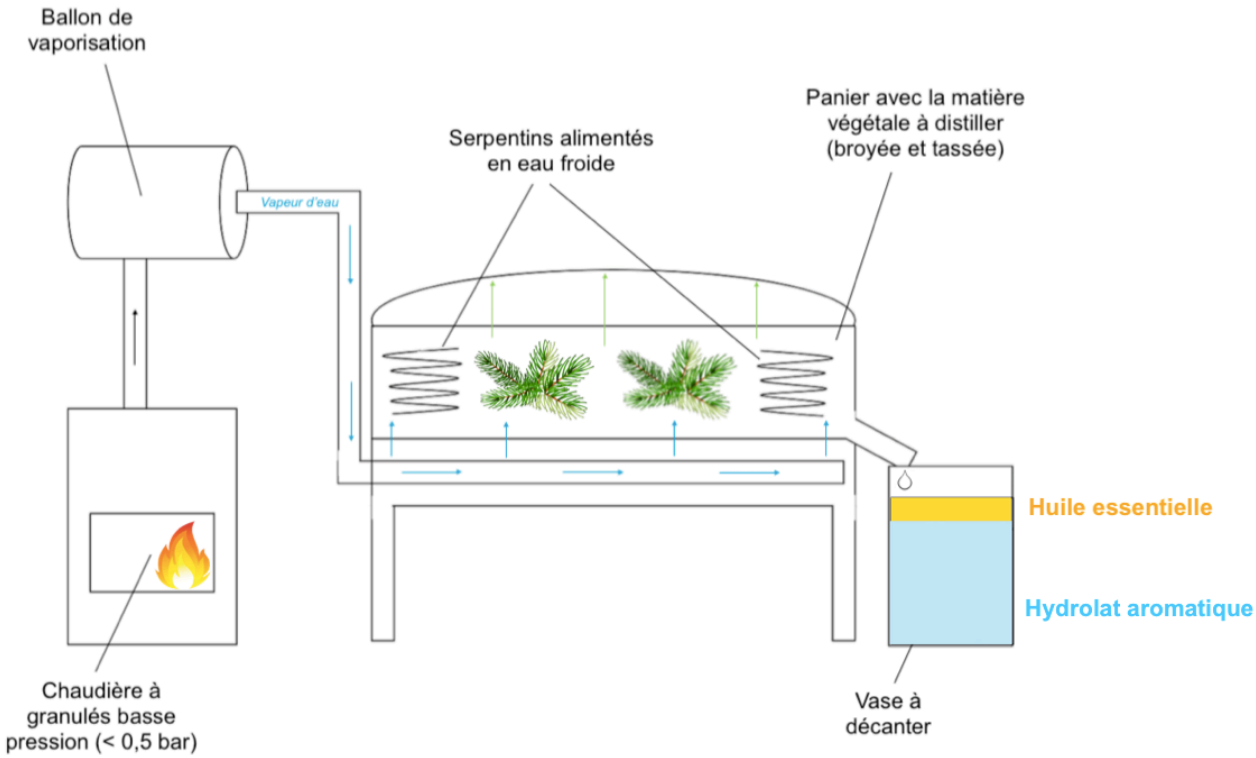


Figure 36. Schéma représentant l'alambic horizontal d'Aromacomtois

1.2.2.2.4. Produits issus de la distillation

La production d'HE n'est pas linéaire, elle a surtout lieu au début des distillations. Celles-ci sont tout de même poursuivies pendant trois heures et demi de sorte à extraire le plus possible de composés volatiles présents dans la matière première.

A la fin le distillat obtenu dans l'essencier correspond à deux phases bien distinctes (Figure 37). La phase supérieure est l'HE et la phase inférieure, plus dense et beaucoup plus volumineuse, correspond à l'HA.

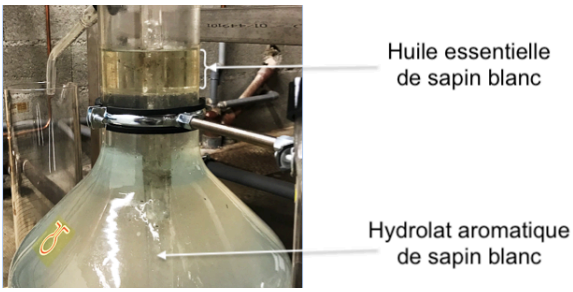


Figure 37. Essencier contenant l'HE et l'HA de sapin blanc

Les HE des quatre espèces de conifères étudiées possèdent toutes une densité inférieure à 1 (Tableau II), c'est pour cette raison que dans l'essencier, elles se retrouvent au dessus des HA, dont la densité est la même que celle de l'eau (d_{HA} = 1).

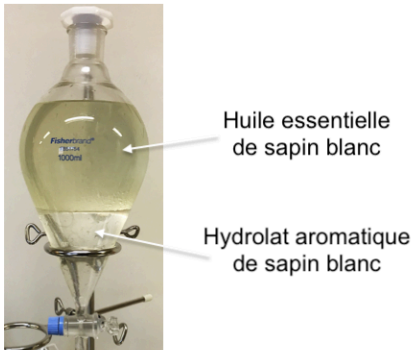
Tableau II. Densité des HE des quatre espèces de conifères qui nous intéressent - Tableau issu de la documentation technique fournie par les laboratoires PhytoSun'Arôms (6)

Huiles Essentielles	Densité (g/mL)	Nombre de goutte au mL
Sapin blanc *Abies alba*	0,8645	57
Épicéa commun *Picea abies*	0,8888	48
Pin sylvestre *Pinus sylvestris*	0,8674	49
Sapin de Douglas *Pseudotsuga menziesii*	0,8679	49

1.2.2.3. Décantation de l'HE

Après la distillation l'HE est récupérée du vase à décanter et est placée dans une ampoule à décanter (Figure 38). Cette manipulation a pour objectif d'achever la séparation de toutes les molécules non miscibles encore présentes dans l'HE obtenue en sortie d'alambic. Elle se fait pendant assez longtemps, environ 24 heures.

Figure 38. Décantation de l'HE de sapin blanc dans une ampoule à décanter



L'HE se sépare en deux phases non miscibles. La phase organique est au dessus et correspond à l'HE. La phase aqueuse, plus dense, se retrouve dans la partie inférieure, il s'agit d'un reste d'HA qui avait mal été séparé de l'HE lors de la distillation.

1.2.2.4. Rendements des distillations

Le rendement des distillations est exprimé par le volume d'HE obtenu en litre (L), sur la masse de matière végétale utilisée pour la distillation en kilogramme (kg) (66) :

$$Rendement\ (en\ \%) = \frac{Volume\ d'HE\ recueilli\ (en\ L)}{Masse\ végétale\ utilisée\ (en\ kg)} \times 100$$

- **HE de sapin blanc** : en moyenne, 1 L d'HE est obtenu à partir d'environ 400 kg d'aiguilles de sapin blanc. Cela correspond à un rendement d'environ **0,25%**.
  Le meilleur rendement en HE de sapin blanc (0,35%) a été obtenu à partir des échantillons récoltés au mois de Juin 2018. Nous avons noté un record de production avec 1,4 L d'HE de sapin blanc obtenus à partir de 400 kg d'aiguilles. Ce niveau a été atteint 2 fois seulement. Nous pouvons éventuellement expliquer cela par le fait que la matière première utilisée était ultra-fraîche : l'arbre coupé à J_0 aurait été récolté à J_1 et très vite distillé à J_4.

- **HE d'épicéa** : 1 L d'HE est obtenu à partir de 900 kg d'aiguilles, le rendement est nettement plus faible que pour le sapin blanc, il est d'environ **0,11%**.

- **HE de pin Sylvestre** : avec environ 300 kg d'aiguilles de pin sylvestre récoltées et broyées, Aromacomtois produit environ 0,820 L d'HE, ce qui correspond à un rendement de **0,27%**.

- **HE de sapin de Douglas** : 1,5 L d'HE de Douglas ont pu être produits à partir d'environ 880 kg de matière première, le rendement est d'approximativement **0,17%**.

Les rendements en HE peuvent varier énormément d'une plante à une autre. Plus le rendement est faible, plus la quantité de plantes nécessaire pour faire les distillations est grande, et donc plus le prix de l'HE sera élevé…

1.3. Analyses des HE de conifères du massif Jurassien

1.3.1. Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

1.3.1.1. Description du principe

Comme vu dans la première partie de ce travail, la CPG est la méthode de référence dans l'étude des HE puisqu'elle est la plus fiable et la plus complète pour déterminer précisément sa composition moléculaire (67).

Pour nos analyses, 1 µL d'HE est injecté dans la colonne capillaire polaire d'un chromatographe, recouverte d'un polymère thermiquement stable et de fort poids moléculaire représentant la phase stationnaire ; le polymère utilisé est le polyéthylène-glycol (PEG)). Le flux de gaz vecteur constitué d'hélium, ou phase mobile, traverse la colonne capillaire et emporte avec lui les molécules présentes dans l'échantillon à analyser. En fonction de leur affinité pour la phase stationnaire, les molécules se séparent et sortent de la colonne à des vitesses différentes. C'est grâce à cette affinité que le temps de rétention de chaque molécule est déterminé (40).

1.3.1.2. Conditions des analyses

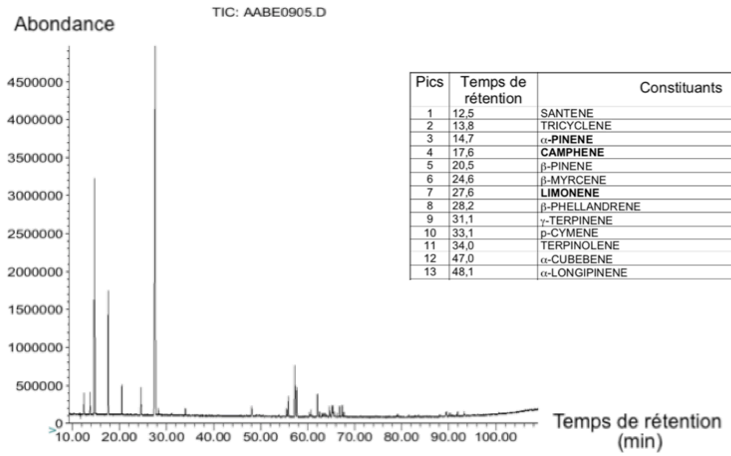
Les HE de conifères sont analysées par le laboratoire Pyrenessences dans des conditions très précises et qui doivent pouvoir être reproductibles de sorte à pouvoir en comparer les résultats.

Le laboratoire utilise un appareil CPG 7890, couplé à un SM 5975, équipé d'une colonne polaire VF WAX, d'une longueur de 60 mètres, d'un diamètre interne de 0,25 mm et d'une épaisseur de film de 0,5 µm.

La température initiale est de 60°C maintenue pendant 6 minutes puis nous réalisons un chauffage à 2°C par minute (5°C par minute pour les analyses de Décembre 2017), jusqu'à obtenir une température de 250°C. Cette température finale est maintenue pendant 20 minutes (15 minutes pour l'analyse de l'HE d'épicéa).

1.3.1.3. Profils chromatographiques obtenus

Les composés volatiles sortent de l'appareil les uns après les autres en passant devant un détecteur, ce qui permet d'obtenir un tracé chromatographique (Figure 39) (68).



Pics	Temps de rétention	Constituants	%
1	12,5	SANTENE	1,26
2	13,8	TRICYCLENE	1,30
3	14,7	**α-PINENE**	**19,90**
4	17,6	**CAMPHENE**	**8,95**
5	20,5	β-PINENE	1,76
6	24,6	β-MYRCENE	1,32
7	27,6	**LIMONENE**	**51,38**
8	28,2	β-PHELLANDRENE	0,27
9	31,1	γ-TERPINENE	0,07
10	33,1	p-CYMENE	0,04
11	34,0	TERPINOLENE	0,40
12	47,0	α-CUBEBENE	0,05
13	48,1	α-LONGIPINENE	0,48

Figure 39. Exemple d'un profil chromatographique

Les molécules sont identifiées par une recherche combinée des temps de rétention (bibliothèque du laboratoire d'analyses Pyrenessences) et des spectres de masse (librairie NKS 75 000 spectres). Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces des pics données par le CPG / FID sans utilisation de facteur de correction.

Les compositions moléculaires qualitatives et quantitatives de chaque lot d'HE sont déterminées avec précision et comparées. Ces résultats nous permettent de mieux connaître les potentiels domaines d'utilisation de ces HE de conifères et de comprendre leurs propriétés pharmacologiques ainsi que leurs précautions d'emploi.

1.3.2. Les HE de conifères du massif Jurassien

1.3.2.1. Quelques généralités

Les HE issues des aiguilles de conifères du massif Jurassien présentent une composition chimique complexe et variable (3). D'après les chromatographies réalisées, nous avons pu constater que ces HE sont très concentrées en molécules actives et

sont surtout très riches en composés terpéniques. D'autres molécules y sont également retrouvées en plus faible concentration (50).

- **Les composés terpéniques**

Nous avons remarqué que ces HE sont majoritairement constituées de carbures monoterpéniques. Ces molécules, très présentes chez les conifères, ne sont pas spécifiques à un genre ou à une espèce. Certains de ces composés sont présents chez tous les conifères (α- et β-pinène) tandis que d'autres ne sont présents que chez certaines espèces (camphène) (17).
Beaucoup de composés sesquiterpéniques sont également retrouvés au sein de ces HE mais en plus faibles proportions. Les deux principaux sesquiterpènes retrouvés sont le β-caryophyllène et le δ-cadinène (50).
Des traces de diterpènes ont pu être relevées dans l'HE d'épicéa ; aucun triterpène n'a été retrouvé.

- **Les autres composés**

D'autres composés ont également été mis en évidence dans les HE de conifères : des esters monoterpéniques dont principalement l'acétate de bornyle, de nombreux alcools, des aldéhydes terpéniques en faible quantité, quelques cétones monoterpéniques, des traces d'oxydes terpéniques et de faibles concentrations en dérivés du phénylpropane…

Ces compositions biochimiques varient d'une espèce de résineux à une autre, ce qui rend chaque HE à la fois unique et extrêmement complexe (69).

1.3.2.2. Analyse de l'HE de sapin blanc

1.3.2.2.1. Description de l'HE

Selon les normes (AFNOR, ISO, Pharmacopées) et d'après les analyses, les caractéristiques de l'HE de sapin blanc sont les suivantes (6)(68) :

Critères organoleptiques :

Aspect : **liquide limpide**
Couleur : **jaune clair**
Odeur : **d'aiguilles, fruitée**

Critères physiques :

Densité à 20°C : **0,850 - 0,890**
Indice de réfraction à 20°C : **1,470 - 1,480**
Pouvoir rotatoire à 20°C : **- 9°**
Point d'éclair : **35°C**

Ces critères sont très sensibles à l'oxydation que peut subir l'HE avec le temps.

1.3.2.2.2. Profil chromatographique de l'HE

D'après quelques études sur les conifères, il a été mis en évidence que les HE issues des aiguilles du genre *Abies* sont caractérisées par leur teneur très élevée en composés monoterpéniques, notamment l'α- et le β-pinène, le camphène, le limonène et l'acétate de bornyle (2)(70)(71).

D'importantes quantités d'aiguilles de sapin blanc ont été récoltées dans le massif Jurassien d'Octobre 2017 à Octobre 2018. Les HE obtenues au cours de cette période ont alors pu être analysées et leurs compositions comparées. Ce travail de comparaison n'a pu être réalisé sur les trois autres espèces de conifères étudiées (épicéa commun, pin sylvestre et sapin de Douglas) puisque beaucoup moins d'aiguilles ont été récoltées.

Les différentes analyses réalisées mettent en évidence que l'HE de sapin blanc *Abies alba* est majoritairement constituée de **monoterpènes** (Figure 40). Elle contient

également, en moindre quantité, des **sesquiterpènes** et des **esters terpéniques** ainsi que quelques autres familles biochimiques diverses.

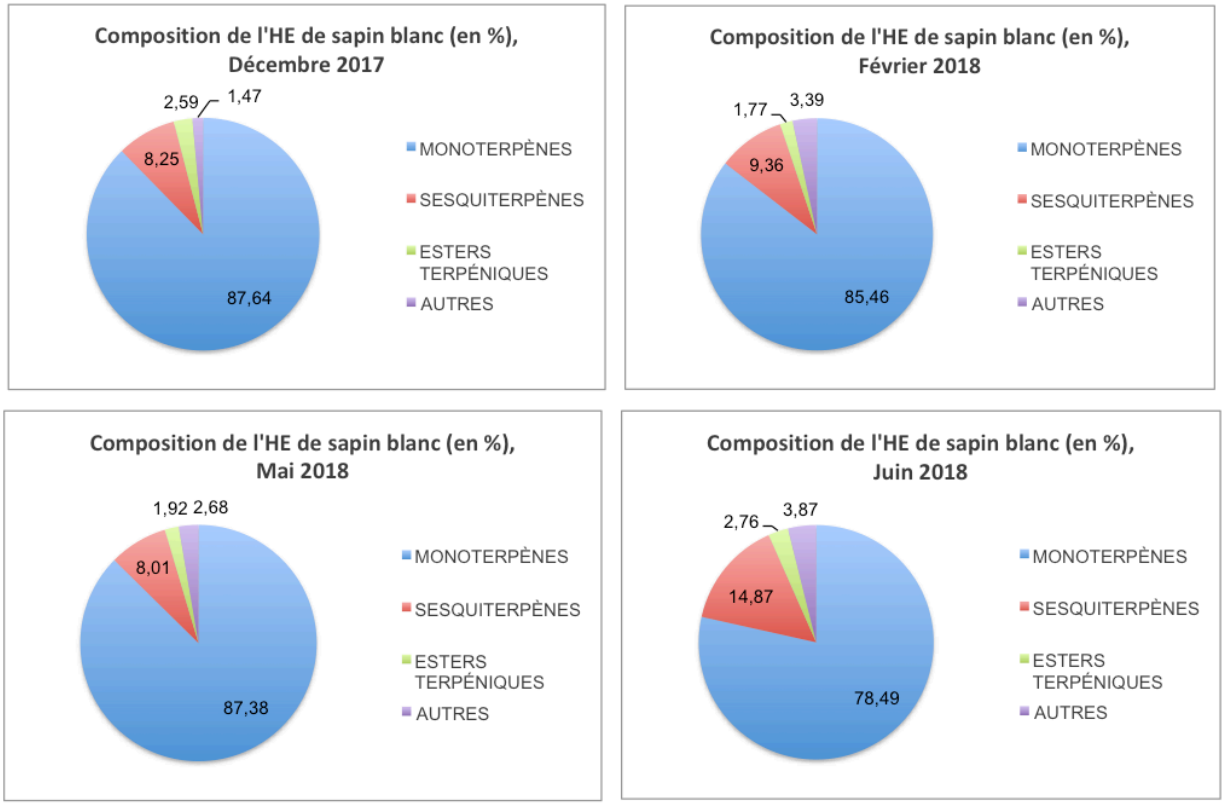


Figure 40. Principales familles biochimiques des HE de sapin blanc du massif Jurassien

Les HE analysées au mois de Décembre 2017 et de Juin 2018 proviennent toutes les deux de résineux d'Amancey. Leur comparaison est davantage intéressante puisqu'elles sont issues du même environnement biologique. L'HE analysée au mois de Février 2018 est issue de conifères de Saraz et celle analysée en Mai 2018 provient de sapin blanc de Levier.

D'après les chromatogrammes obtenus au cours des différents mois de l'année (Annexes 1 - 2 - 3 - 4), nous avons noté que la principale famille biochimique retrouvée au sein de cette HE est la famille des monoterpènes, et ce, quelque soit la saison. Les principaux monoterpènes présents sont le **limonène**, l'**α-pinène**, le **camphène** et le **β-pinène**. L'HE contient également un très grand nombre de sesquiterpènes dont le **β-caryophyllène**. Nous constatons aussi la présence d'esters monoterpéniques notamment l'**acétate de bornyle** (Tableau III).

Tableau III. Composition biochimique de l'HE de sapin blanc du massif Jurassien (en %)

Molécules \ Espèces	Sapin blanc (Décembre 17)	Sapin blanc (Février 18)	Sapin blanc (Mai 18)	Sapin blanc (Juin 18)
SANTENE	1,66	1,76	1,27	1,37
TRICYCLENE	1,85	1,66	1,48	1,59
ALPHA-PINENE	**18,38**	**16,33**	**13,18**	**11,94**
CAMPHENE	**13,72**	**12,43**	**11,43**	**12,82**
BETA-PINENE	3,30	1,49	1,25	3,07
SABINENE	0,01	0,01	0,01	0,01
DELTA-3-CARENE	0,06	0,18	0,12	0,06
BETA-MYRCENE	1,20	1,34	1,46	1,00
ALPHA-TERPINENE		0,02	0,02	0,03
LIMONENE	**46,17**	**51,19**	**57,70**	**46,76**
GAMMA-TERPINENE		0,04	0,04	0,05
1,8-CINEOLE			0,03	
BETA-PHELLANDRENE				
TERPINOLENE	0,48	0,37	0,39	0,50
ALPHA-LONGIPINENE	0,65	0,71	0,64	1,13
ACETATE DE BORNYLE	2,40	1,75	1,87	2,73
BETA-CARYOPHYLLENE	2,30	2,64	2,22	3,51
HIMACHALA-2,4-DIENE				2,78
TERPINENE-4-OL		0,04	0,01	0,02
ALPHA-HUMULENE	0,88	0,90	0,83	1,40
DELTA-CADINENE		0,17	0,16	0,25

L'HE de sapin blanc du massif Jurassien est une huile essentielle chémotypée (HECT) et possède la race chimique : limonène / α-pinène / camphène.

1.3.2.2.3. Discussion

Ces analyses chromatographiques nous permettent de remarquer que la composition moléculaire de l'HE de sapin blanc n'est pas toujours précisément la même au cours d'une année (Figure 41). Cependant cette HE présente une caractéristique principale : un taux élevé en limonène. Ce taux est très supérieur à celui des autres HE analysées que nous détaillerons par la suite.

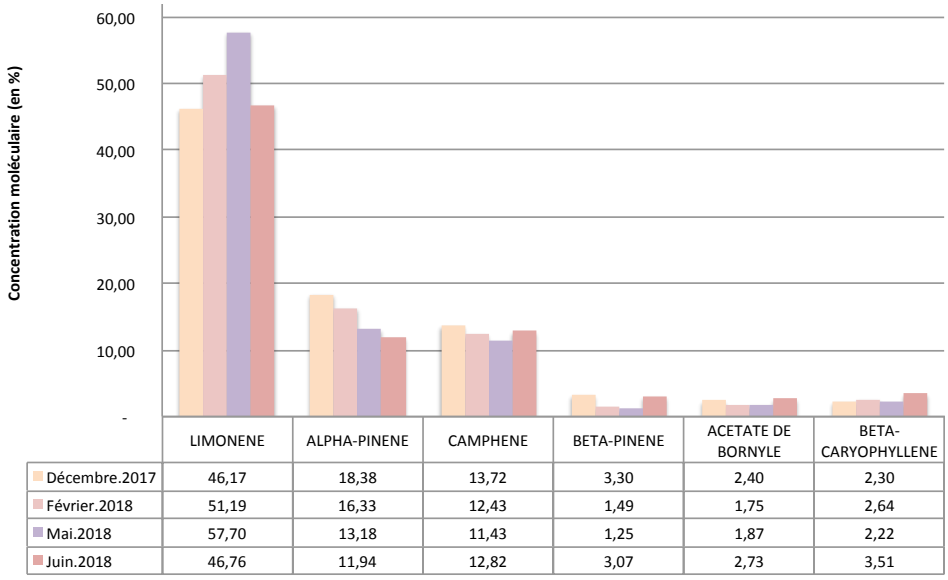


Figure 41. Comparaison des concentrations moléculaires dans les HE de sapin blanc

Les petites variations biochimiques que l'on observe à travers les différentes analyses peuvent être expliquées par plusieurs facteurs. Certains sont d'ordres génétique, d'autres dépendent de la plante elle-même et de son état lors des récoltes (stade phénologique, période de floraison), alors que d'autres encore sont plutôt environnemental : les récoltes de la matière première ayant lieu à différentes saisons de l'année et à différents endroits dans le massif. Ainsi les différents biotopes d'où proviennent les aiguilles de sapin ont probablement induits la synthèse des molécules au sein de la matière première entrainant des variations de compositions moléculaires des HE. Nous supposons aussi que le calendrier lunaire, l'âge et la position des aiguilles utilisées par rapport au tronc du conifère (cime ou pied) auraient des influences sur ces variations biochimiques (14). C'est cet ensemble de paramètres qui oriente vers la biosynthèse de molécules précises au sein de la matière première (66).

Nous remarquons l'augmentation importante de la concentration en limonène dans l'HE issue des récoltes de Mai et pouvons émettre certaines hypothèses :

1] Les aiguilles de sapin blanc synthétiseraient davantage de limonène au cours du mois de Mai, période de floraison pendant laquelle de nouvelles pousses apparaissent. Des travaux ont montré qu'*Abies alba* est un émetteur important de composés organiques volatiles biogènes (α-pinène, β-pinène, camphène, limonène et isoprène, précurseur des monoterpènes) et que ces émissions sont plus importantes en Mai avec le développement des jeunes aiguilles (72).

2] Les sapins provenant d'Amancey (analyses de Décembre et de Juin) synthétiseraient moins de limonène que ceux de Saraz ou de Levier, ce qui expliquerait la teneur plus faible en limonène de leurs HE.

1.3.2.3. Analyse de l'HE d'épicéa commun

1.3.2.3.1. Description de l'HE

Les caractéristiques de l'HE d'épicéa sont les suivantes (55) :

Critères organoleptiques :

Aspect : **liquide limpide**
Couleur : **jaune pâle**
Odeur : **fraîche, boisée, résineuse, aromatique**

Critères physiques :

Densité à 20°C : **0,870**
Indice de réfraction à 20°C : **1,4721**
Pouvoir rotatoire à 20°C : **-26°**
Point d'éclair : **50°C**

1.3.2.3.2. Profil chromatographique de l'HE

D'après les connaissances, les HE issues des feuilles de conifères du genre *Picea* sont surtout riches en terpènes (70).

D'après les résultats des analyses (Figure 42) (Annexe 5), nous constatons que les molécules les plus présentes dans l'HE d'épicéa sont les **monoterpènes** (79,53%) puis les **sesquiterpènes** (11,33%). D'autres familles biochimiques sont retrouvées en plus faibles proportions.

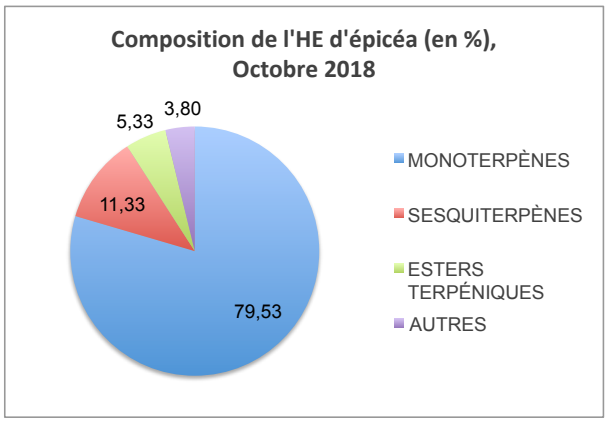


Figure 42. Principales familles biochimiques de l'HE d'épicéa du massif Jurassien

Parmi ce pourcentage important de monoterpènes au sein de l'HE d'épicéa, nous notons la présence de 27,65% de **β-pinène**, 14,17% d'**α-pinène**, 11,81% de **β-myrcène** et 9,67% de **limonène**… Concernant la classe des sesquiterpènes, nous constatons notamment l'existence de **β-caryophyllène** (2,18%). Le pourcentage d'**acétate de bornyle** (4,58%) dans cette HE est notable, c'est le principal ester terpénique retrouvé (Tableau IV).

Tableau IV. Composition biochimique de l'HE d'épicéa commun du massif Jurassien (en %)

Molécules \ Espèces	Épicéa (Octobre 18)
SANTENE	0,31
TRICYCLENE	0,42
ALPHA-PINENE	**14,17**
CAMPHENE	4,54
BETA-PINENE	**27,65**
SABINENE	0,21
DELTA-3-CARENE	3,86
BETA-MYRCENE	**11,81**
ALPHA-TERPINENE	0,22
LIMONENE	**9,67**
GAMMA-TERPINENE	0,36
1,8-CINEOLE	
BETA-PHELLANDRENE	**5,47**
TERPINOLENE	0,76
ALPHA-LONGIPINENE	0,33
ACETATE DE BORNYLE	**4,58**
BETA-CARYOPHYLLENE	2,18
HIMACHALA-2,4-DIENE	
TERPINENE-4-OL	0,21
ALPHA-HUMULENE	0,94
DELTA-CADINENE	0,51

L'HE d'épicéa commun du massif Jurassien est une HECT : β-pinène / α-pinène.

1.3.2.3.3. Discussion

Comme l'HE de sapin blanc, celle d'épicéa commun est caractérisée par un important pourcentage de monoterpènes en particulier le β-pinène et l'α-pinène.

Cette HE est également caractérisée par des taux relativement élevés de limonène et de β-myrcène ainsi que par une quantité notable d'acétate de bornyle, ester terpénique nettement moins fréquent dans les autres HE de résineux analysées.

1.3.2.4. Analyse de l'HE de pin sylvestre

1.3.2.4.1. Description de l'HE

Selon les normes (AFNOR, ISO, Pharmacopées) et d'après les analyses, les caractéristiques de l'HE de pin sylvestre sont les suivantes (73) :

Critères organoleptiques :

Aspect : **liquide limpide**
Couleur : **jaune clair**
Odeur : **caractéristique d'aiguilles, fruitée**

Critères physiques :

Densité à 20°C : **0,868**
Indice de réfraction à 20°C : **1,483**
Pouvoir rotatoire à 20°C : **-9°**
Point d'éclair : **36°C**

1.3.2.4.2. Profil chromatographique de l'HE

D'après les connaissances, les HE provenant des aiguilles de conifères du genre *Pinus* sont également principalement constituées de terpènes (4)(70).

Au vu de l'analyse par CPG / SM (Figure 43) (Annexe 6), nous constatons que les molécules les plus présentes dans l'HE de pin sylvestre sont les terpènes. Nous retrouvons notamment une majorité de **monoterpènes** (78,20%) ainsi que la présence de quelques **carbures sesquiterpéniques** (19,34%).

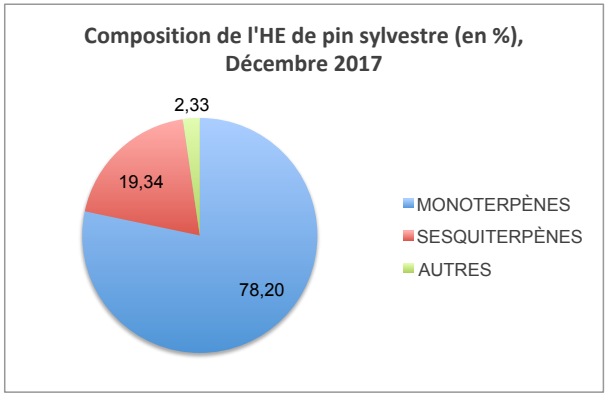


Figure 43. Principales familles biochimiques de l'HE de pin sylvestre du massif Jurassien

Parmi les monoterpènes de l'HE, notons la présence de 25,31% de **β-pinène**, 16,64% d'**α-pinène**, 15,30% de **δ-3-carène** et 9,08% de **β-myrcène**. En ce qui concerne les sesquiterpènes, nous retrouvons 5,89% de **δ-cadinène** et 4,58% **de β-caryophyllène** (Tableau V).

Tableau V. Composition biochimique de l'HE de pin sylvestre du massif Jurassien (en %)

Espèces / Molécules	Pin sylvestre (Décembre 17)
SANTENE	0,01
TRICYCLENE	0,32
ALPHA-PINENE	**16,64**
CAMPHENE	1,21
BETA-PINENE	**25,31**
SABINENE	0,37
DELTA-3-CARENE	**15,30**
BETA-MYRCENE	**9,08**
ALPHA-TERPINENE	0,18
LIMONENE	1,15
GAMMA-TERPINENE	0,35
1,8-CINEOLE	
BETA-PHELLANDRENE	**5,17**
TERPINOLENE	1,74
ALPHA-LONGIPINENE	0,06
ACETATE DE BORNYLE	0,20
BETA-CARYOPHYLLENE	**4,58**
HIMACHALA-2,4-DIENE	
TERPINENE-4-OL	0,03
ALPHA-HUMULENE	0,68
DELTA-CADINENE	5,89

L'HE de pin sylvestre du massif Jurassien est une HECT : β-pinène / α-pinène.

1.3.2.4.3. Discussion

Nous avons pu mettre en évidence que l'HE de pin sylvestre du massif Jurassien est principalement riche en monoterpènes. Nous avons en effet noté des taux élevés d'α-pinène, de β-pinène, de limonène, de δ3-carène et de β-myrcène.

Le δ3-carène est également retrouvé dans l'HE de sapin de Douglas contrairement aux HE de sapin blanc et d'épicéa dans lesquelles il est très minoritaire. Le β-myrcène est présent dans l'HE d'épicéa à une concentration presque similaire à celle du pin sylvestre alors que sa concentration dans les autres HE est beaucoup plus faible.

1.3.2.5. Analyse de l'HE de sapin de Douglas

1.3.2.5.1. Description de l'HE

Les caractéristiques de l'HE de sapin de Douglas sont les suivantes (55) :

Critères organoleptiques :

Aspect : **liquide limpide**
Couleur : **jaune pâle à vert pâle**
Odeur : **légèrement fruité**

Critères physiques :

Densité à 20°C : **0,860 - 0,869**
Indice de réfraction à 20°C : **1,470 - 1,480**
Pouvoir rotatoire à 20°C : **-30° à -4°**
Point d'éclair : **38°C**

1.3.2.5.2. Profil chromatographique de l'HE

Comme pour les précédentes, l'HE de sapin de Douglas du massif du Jura est analysée par CPG / SM (Figure 44) (Annexe 7).
D'après le résultat de cette analyse, nous constatons que cette HE est principalement composé de **monoterpènes** (91,66 %). D'autres familles chimiques sont retrouvées mais en très moindre proportion.

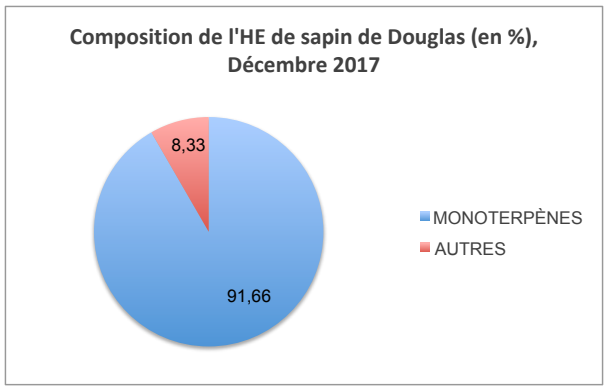


Figure 44. Principales familles biochimiques de l'HE de Douglas du massif Jurassien

Parmi les monoterpènes de l'HE de Douglas, nous observons principalement la présence de 32,24% de **β-pinène**, 15,68% d'**α-pinène**, 10,72% de **δ-3-carène** et 10,48% de **terpinolène** (Tableau VI).

Tableau VI. Composition biochimique de l'HE de sapin de Douglas du massif Jurassien (en %)

Molécules \ Espèces	Sapin de Douglas (Décembre 17)
SANTENE	0,06
TRICYCLENE	0,26
ALPHA-PINENE	**15,68**
CAMPHENE	1,81
BETA-PINENE	**32,24**
SABINENE	4,66
DELTA-3-CARENE	**10,72**
BETA-MYRCENE	2,74
ALPHA-TERPINENE	2,57
LIMONENE	3,12
GAMMA-TERPINENE	4,27
1,8-CINEOLE	
BETA-PHELLANDRENE	1,94
TERPINOLENE	**10,48**
ALPHA-LONGIPINENE	0,03
ACETATE DE BORNYLE	0,67
BETA-CARYOPHYLLENE	0,11
HIMACHALA-2,4-DIENE	
TERPINENE-4-OL	2,08
ALPHA-HUMULENE	0,22
DELTA-CADINENE	0,05

L'HE d'épicéa commun du massif Jurassien est une HECT : β-pinène / α-pinène.

1.3.2.5.3. Discussion

Les principales molécules retrouvées dans la composition de l'HE de Douglas sont des monoterpènes avec une majorité de β-pinène. L'α-pinène, le δ3-carène et le terpinolène sont d'autres molécules également très présentes dans cette HE.
Contrairement aux autres HE de résineux analysées, nous remarquons que l'HE de Douglas contient des concentrations assez élevées en terpinolène, γ-terpinène et sabinène, c'est ce qui la caractérise.

Aussi, l'analyse de cette HE montre une très faible présence d'acétate de bornyle (0,67%) dans sa composition alors que certaines variétés de sapin de Douglas n'en contiennent pas du tout. Il a été constaté que les HE issues des sapins de Douglas possèdent des compositions moléculaires qui peuvent varier considérablement. En effet, celles qui proviennent des régions côtières et celles issues des montagnes ont des compositions quantitatives terpéniques bien distinctes, contrôlées génétiquement. Leur analyse peut contribuer à leur identification (74). La variété qui contient l'acétate de bornyle est la variété d'altitude, très résistante (50), c'est donc celle qui a été rencontrée dans le massif du Jura.

1.3.2.6. Récapitulatif : composition des HE étudiées

Tableau VII. Les principales classes moléculaires retrouvées dans les HE de conifères

Classe chimique	Propriétés pharmacologiques	Toxicités
Monoterpène	Tonique, immunostimulant, effet « *cortison-like* », antiseptique atmosphérique, expectorant, décongestionnant respiratoire	Dermocaustique Néphrotoxique Allergie
Sesquiterpène	Anti-inflammatoire, calmant, décongestionnant veineux et lymphatique, hypotenseur, antihistaminique	Dermocaustique Néphrotoxique
Ester terpénique	Antispasmodique, sédatif, anticonvulsivant, rééquilibrant nerveux, antidépresseur, antalgique, anti-inflammatoire	Dessèchement des téguments Épileptogène (acétates)

D'autres classes chimiques ont été retrouvées, en plus faible quantité, dans les HE de conifères. Leur nature très variée ne nous permet pas d'en faire un exposé détaillé. L'activité thérapeutique de ces composés différents n'est pas mesurable cependant il se peut qu'ils entrent en synergie avec les composés majoritaires de l'HE et interviennent dans son activité (3).

Compte tenu des résultats des analyses réalisées et des propriétés des molécules retrouvées, ce travail pourrait contribuer à valoriser l'utilisation des aiguilles de conifères du massif Jurassien dans le secteur de l'aromathérapie. Dans la partie qui suit, nous allons détailler les propriétés et les toxicités des HE issues d'aiguilles de conifères.

2. Propriétés des HE d'aiguilles de conifères

Les propriétés d'une HE sont très souvent étroitement liées à sa composition chimique. Cependant beaucoup d'interactions entre les molécules sont possibles et tous les composants d'une HE, même les plus minoritaires, sont susceptibles de modifier l'activité pharmacologique et la toxicité de l'HE.

Les résultats chromatographiques obtenus peuvent nous aider à comprendre un peu plus précisément les propriétés et les toxicités des HE issues des aiguilles de résineux. Nous ne pouvons affirmer leurs propriétés et toxicités à partir de leurs compositions chimiques seulement (12)(75) ; des analyses et expériences supplémentaires s'avèrent nécessaires.

Les HE issues des aiguilles de conifères présentent des propriétés anti-infectieuses connues (antiseptique atmosphérique) ainsi que des propriétés décongestionnantes respiratoires, tonifiantes et antalgiques (3). Dans la partie qui suit, nous détaillerons chacune de ces propriétés.

2.1. Propriétés anti-infectieuses des HE

Dans la nature, les composés présents au sein de la matière végétale jouent un rôle important et lui permettent de se défendre et de survivre dans son environnement. Ces composés peuvent notamment agir sur des micro-organismes présents dans la nature, comme les bactéries, virus, champignons, insectes et les mauvaises herbes. Ces propriétés naturelles ont été la base de nombreuses recherches sur l'intérêt de l'utilisation des HE comme anti-infectieux chez l'Homme (28).

L'activité anti-infectieuse des HE a déjà pu être démontrée par de nombreuses méthodes dans de nombreuses études (76). La plupart du temps les HE sont incorporées dans de la gélose contenue dans des boites de Pétri et inoculées avec les micro-organismes à étudier (77).

2.1.1. Influence de la composition de l'HE

L'activité anti-infectieuse d'une HE est étroitement liée à sa composition chimique, en particulier à ses composés majoritaires. Il a été admis que cette activité décroisse suivant la nature des molécules : phénol > aldéhyde aromatique > alcool >

cétone > oxyde > hydrocarbure > ester (66). Cependant cette activité prend en compte l'ensemble des composés présents dans l'HE y compris les plus minoritaires (78).

Il existe très peu d'informations sur les activités antimicrobiennes et antifongiques des HE issues des aiguilles de conifères. Ces HE riches en hydrocarbures terpéniques notamment les HE obtenues à partir des aiguilles de pin seraient actives contre certaines bactéries et champignons (79).

En 2004, des chercheurs Japonais ont testé le pouvoir anti-infectieux de trois HE issues d'aiguilles de conifères sur quatre bactéries et un champignon. Cette étude a montré que ces HE, principalement constituées de monoterpènes, possèdent des propriétés antibactériennes, ou antifongiques, ou combinent à la fois ces deux effets (80).
Une seconde étude a démontré l'activité, contre la bactérie *Listeria monocytogenes*, des terpènes présents dans les HE de pin, de sapin et d'épicéa : l'α- et β-pinène, le R- et S-limonène, le 1,8-cinéole et le bornéol. Ces composants, présents en différentes proportions dans les HE, possèdent une activité plus ou moins marquée. Les résultats de cette étude ont montré que même à faibles concentrations, ces molécules possèdent une activité contre la bactérie (81).

2.1.2. Les HE de conifères étudiées

- **HE de sapin blanc**

  Une étude datant de 1996 a mis en évidence les différentes activités antimicrobiennes de neuf espèces du genre *Abies* sur neuf bactéries différentes. Les résultats ont permis de classer les HE du genre *Abies* en trois groupes différents selon leur pouvoir antibactérien. Le premier groupe ne possède pas d'effet antimicrobien ; le second groupe qui comprend *Abies alba* possède une activité modeste ; le troisième groupe possède la plus grande activité antimicrobienne (82).

- **HE d'épicéa commun**

  L'HE d'épicéa commun présente également des propriétés antiseptiques (83).

Il y a quelques années, en Autriche, des recherches ont été réalisées sur l'activité antimicrobienne de jeunes pouces de *Picea abies* contre des bactéries et champignons. Cet effet antimicrobien a été comparé à ceux d'une HE d'aiguilles de pin commerciale et du chloramphénicol, antibactérien de référence. L'HE d'épicéa utilisée dans cette étude contenait une majorité de monoterpènes dont principalement le limonène, l'humulène et un ester, l'acétate de bornyle. D'après les résultats obtenus, les deux HE de conifères ont montré une activité contre quelques bactéries. La plupart du temps leur effet n'était pas aussi puissant que celui du chloramphénicol, excepté pour certaines souches de bactéries notamment *Streptococcus faecalis* et *Bacillus subtilis* (76).

L'HE d'épicéa commun issue des montagnes du Jura pourrait donc être un anti-infectieux particulièrement efficace contre certaines souches bactériennes.

- **HE de pin sylvestre**

  L'HE de pin sylvestre est une HE anti-infectieuse médium (6). Elle est beaucoup utilisée pour désinfecter les voies respiratoires, dans les cas de sinusites par exemple ; ainsi qu'en diffusion pour assainir et désinfecter une pièce tout en la désodorisant (59)(60)(84).

- **HE de sapin de Douglas**

  L'HE de Douglas serait aussi antiseptique notamment pour les voies respiratoires. Elle servirait également pour la désinfection des locaux (85).

2.1.3. Influence de l'oxydation de l'HE

Ces HE issues du sapin blanc, de l'épicéa, du pin sylvestre et du Douglas possèdent une activité anti-infectieuse variable mais très souvent accrue avec le temps.

Afin d'aborder l'intérêt du vieillissement de ces HE sur leur activité antimicrobienne, apparaissent les notions d'oxydation, d'autoxydation et de photo-oxydation. C'est l'action conjuguée de la lumière et de l'oxygène sur les molécules de l'HE, en particulier les terpènes, qui est à l'origine de ces phénomènes. Ces réactions complexes sont à

l'origine de la synthèse de nouvelles molécules oxygénées. Des bioconversions peuvent également avoir lieu au cours du temps, au sein des molécules contenues dans les HE, entrainant la synthèse d'autres molécules (78).

Une étude compare l'activité des HE de sapin blanc, d'épicéa, de pin sylvestre et de Douglas naturelles *versus* oxygénées, sur six souches pathogènes. Lorsque les HE sont oxygénées, nous pouvons observer une très nette augmentation de leur activité anti-infectieuse, quelque soit la souche étudiée. C'est l'apparition de différents monoterpènes (carvone, carvéol) et sesquiterpènes oxygénés qui serait à l'origine de cette exaltation d'activité (78).

2.1.4. Expérimentation sur l'HE de sapin blanc du Jura

L'HE de sapin pectiné possèderait des propriétés antiseptiques atmosphériques intéressantes. En effet elle pourrait notamment être utilisée en inhalation ou en diffusion atmosphérique afin d'assainir les voies respiratoires et l'environnement. Nous avons pu analyser le pouvoir antibactérien de cette HE d'après la technique de l'aromatogramme.

1 / Principe de l'aromatogramme – Matériel et méthode

« *L'aromatogramme est à la phytothérapie ce que l'antibiogramme, décrit par la Pharmacopée Française des antibiotiques, est à la médecine* » Dr M. Girault, 1971.

Un aromatogramme est une méthode *in vitro* qui permet de déterminer le pouvoir anti-infectieux d'une HE. Cette technique, inspirée de l'antibiogramme, permet d'observer le comportement d'un micro-organisme, une bactérie ou une levure, en présence de différentes HE préalablement choisies. Cette technique est aussi appelée méthode des disques ou méthode de Kirby-Bauer et consiste à utiliser des boites de Pétri dans lesquelles se trouvent des bactéries dans un milieu solide, la gélose. De petits disques de papier buvard imprégnés de différentes HE sont déposés dans les milieux de culture (Figure 45) (86).

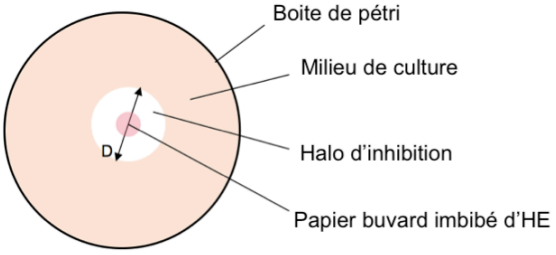


Figure 45. Schéma représentant un aromatogramme

L'aromatogramme permet de déterminer l'activité inhibitrice des HE sur la croissance des micro-organismes, grâce à la mesure du diamètre d'inhibition D formé autour des disques de papier buvard imprégnés d'HE. Après un temps d'incubation le diamètre d'inhibition qui entoure le disque buvard est mesuré. Cette zone correspond à la destruction des germes pathogènes et permet d'évaluer l'efficacité des HE.

Comme pour un antibiogramme, les résultats de l'aromatogramme se font en fonction de ce diamètre d'inhibition D et selon trois niveaux d'activité (Figure 46) (86) :

- S'il n'y a pas de diamètre d'inhibition ou si celui-ci est inférieur à 6 mm, cela montre que la bactérie a résisté à l'HE. L'HE est considérée comme inactive sur la bactérie ;
- Si le diamètre d'inhibition est compris entre 6 et 13 mm, cela signifie que l'HE a une activité intermédiaire sur la bactérie ;
- Si le diamètre d'inhibition est supérieur à 13 mm, alors la croissance de la bactérie, sensible, a été inhibée par la présence de l'HE qui est donc très active.

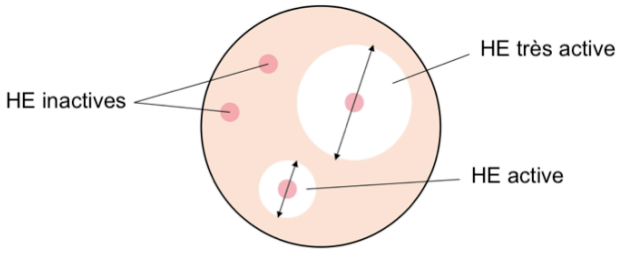


Figure 46. Schéma représentant l'interprétation d'un aromatogramme

2 / Partie expérimentale

Nous testons le pouvoir antibactérien de l'HE de sapin blanc sur quatre souches bactériennes différentes : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter*.

Pour la réalisation de ces cultures, nous ensemençons des géloses avec une solution saline à 0.5 Mac-Farland. Après séchage, nous plaçons sur chaque culture neuf disques buvards stériles différents sur lesquels ont été déposé au préalable 10 µL d'HE. Sur chaque papier buvard se trouve une HE différente. L'un d'eux est imprégné d'HE de sapin blanc, les autres sont imprégnés d'autres HE bien connues et très souvent utilisées de nos jours pour leurs propriétés antimicrobiennes. La comparaison des résultats obtenus nous permet de connaitre l'activité antibactérienne de l'HE de sapin blanc. Nous avons incubé les cultures pendant 12 heures à une température de 37°C.

3 / Résultats des aromatogrammes

Nous mesurons l'activité antibactérienne des neuf HE testées. Compte tenu des diamètres d'inhibition révélés autour des papiers buvards, nous remarquons que les huit HE connues inhibent la croissance des quatre souches de bactéries à des degrés plus ou moins importants. En revanche, nous n'observons aucun diamètre d'inhibition autour de l'HE de sapin blanc, et ce, pour les quatre souches de bactéries (Figure 47).

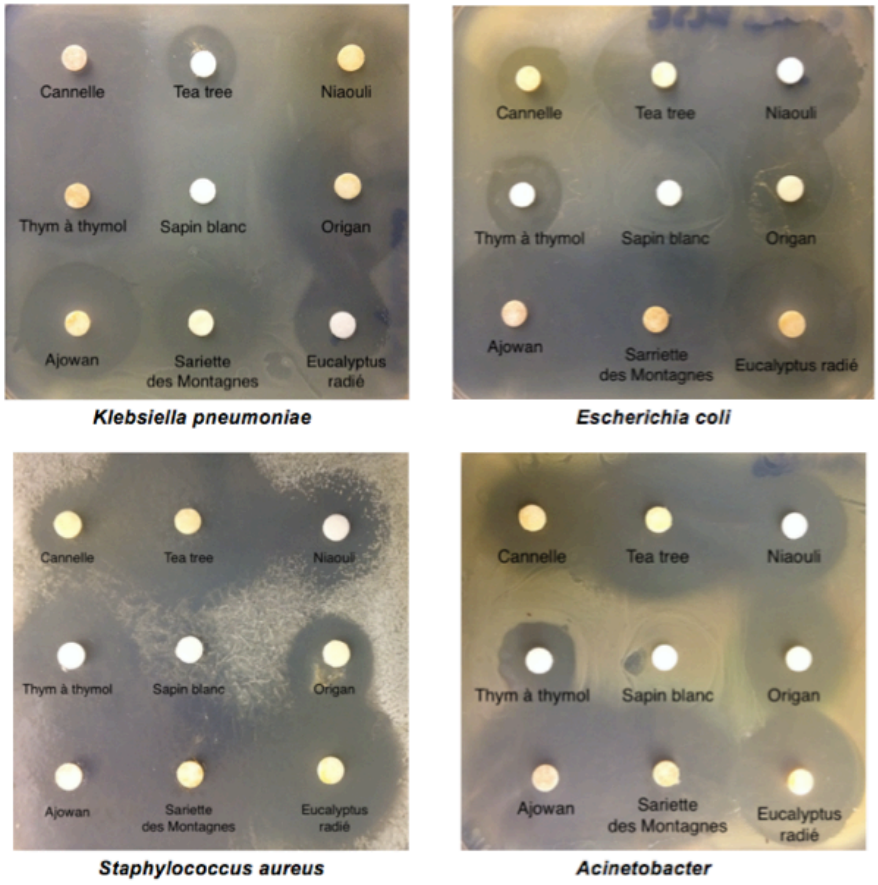


Figure 47. Photographies des quatre aromatogrammes réalisés

D'après ces aromatogrammes, nous constatons que l'HE de sapin blanc n'inhibe pas la croissance des quatre bactéries mises en culture puisque le diamètre d'inhibition est inexistant autour de cette HE. D'après ces résultats, nous concluons que l'HE de sapin blanc des montagnes du Jura n'a aucun effet antibactérien sur ces quatre germes testés.

D'autres manipulations sur différents germes bactériens s'avèrent nécessaires afin de mettre en évidence une potentielle activité antibactérienne de cette HE. Aussi, il serait intéressant de reproduire cette même expérience avec une HE de sapin blanc ayant subi l'effet du temps, c'est à dire s'étant oxydée.

2.2. Propriétés décongestionnantes respiratoires des HE

En plus de leur propriétés anti-infectieuses, les HE issues des aiguilles de conifères sont particulièrement utilisées pour soulager les pathologies broncho-pulmonaires (76).
Ces HE possèdent des propriétés fluidifiantes intéressantes, mucolytiques et expectorantes, facilitant l'évacuation des sécrétions de l'appareil respiratoire.

- **HE de sapin blanc**
  L'odeur rafraichissante de cette HE est très intéressante et aiderait à mieux respirer. Cette HE possède une action décongestionnante sur les voies respiratoires. Elle est asséchante et permet de lutter contre l'hypersécrétion de mucus (3).

- **HE d'épicéa commun**
  L'HE d'épicéa est également beaucoup utilisée pour prévenir et lutter contre les affections respiratoires (83).

- **HE de pin sylvestre**
  Le pin sylvestre est connu pour ses vertus antiseptiques et mucolytiques, faisant de lui la plante majeure dans le traitement des affections respiratoires avec toux grasse. Ce résineux fournit une HE connue depuis de nombreuses années et très utilisée

dans les pathologies touchant les voies pulmonaires (3). L'HE de pin sylvestre est aussi expectorante et facilite la respiration (60). Cette HE soulage les inflammations allergiques et est efficace sur l'asthme et le rhume des foins (59)(84).

- **HE de sapin de Douglas**
  L'HE de Douglas est également mucolytique, expectorante et permet de libérer et de faciliter la respiration (45).

Les quatre HE étudiées dans ce travail aideraient à soulager certaines affections des voies respiratoires telles que la toux, le rhume, la grippe, la sinusite, la bronchite et la laryngite et tout ce qui pourrait être à l'origine d'un encombrement des voies aériennes.

2.3. Propriétés tonifiantes et stimulantes des HE

Certaines HE sont connues pour agir sur le système endocrinien et mimer l'action de certaines hormones présentes naturellement dans l'organisme. On appelle cela des propriétés « *hormon-like* » ce qui signifie « mimétique hormonale ». Quelques HE sont par exemple « *oestrogen-like* » et mimeront l'effet des œstrogènes, d'autres sont « *cortison-like* » et reproduiront l'effet du cortisol. C'est ce dernier effet qui nous intéresse pour comprendre les propriétés tonifiantes des HE de conifères.

Le cortisol est une hormone sécrétée par les glandes surrénales notamment en cas de stress. Elle possède une action anti-inflammatoire. Cette hormone est intéressante en cas de baisse d'énergie, de fatigue passagère ou chronique, de dépressions mineurs et d'infections à répétitions.

Les HE « *cortison-like* » les plus connues sont celles de pin sylvestre et d'épinette noire (*Picea mariana*), deux conifères. Cette dernière serait très efficace contre l'épuisement et le « burn-out ». Les HE de conifères étudiées possèdent également ces propriétés et agiraient comme le fait le cortisol.

- **HE de sapin blanc**

  L'HE de sapin est énergétique et tonifie à la fois le moral et le physique. Son odeur agréable de forêt aurait de grands bienfaits et permettrait de donner dynamisme et vitalité à l'organisme (87). Sa composition moléculaire permet d'expliquer son action fortifiante sur l'organisme. Ce sont notamment les monoterpènes qui sont à l'origine de cette action tonifiante.

  L'HE de sapin est aussi rééquilibrante nerveuse en raison de la présence d'un ester, l'acétate de bornyle dans sa composition. Cette molécule donne à l'HE la propriété de lutter contre la fatigue psychique.

- **HE d'épicéa commun**

  L'HE d'épicéa présenterait également des propriétés tonifiantes (83). Il a été démontré que les monoterpènes présents dans cette HE seraient d'importants immunostimulants qui permettraient notamment de stimuler la production de γ-globulines (2).

- **HE de pin sylvestre**

  Le pin sylvestre est un arbre mythique en Extrême-Orient où il symbolise la vie, la longévité et l'immortalité.

  Son HE serait efficace contre certains troubles nerveux et est indiquée dans les problèmes de fatigue (88). En effet, certains carbures monoterpéniques présents dans l'HE de pin sylvestre stimuleraient l'axe hypophyso-corticosurrénalien et possèderaient un effet « *cortison-like* ». Cela donnerait à l'HE un intérêt particulier en période de fatigue mais également dans les états inflammatoires prolongés. Cette stimulation de l'organisme a été démontré avec les HE de pin sylvestre riches en monoterpènes (2)(84). Elle aurait aussi des propriétés tonifiantes veineuses et serait stimulante lymphatique et décongestionnante prostatique (83).

2.4. Propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antispasmodiques des HE

2.4.1. Propriétés antalgiques et anti-inflammatoires

2.4.1.1. Quelques généralités

Les HE antalgiques et anti-inflammatoires sont surtout utilisées dans le traitement des affections de l'appareil locomoteur notamment l'inflammation des articulations (arthrite et spondylarthrite par exemple). Plusieurs molécules retrouvées dans la composition des HE peuvent être à l'origine de cet effet thérapeutique intéressant.

Une réaction inflammatoire est une réponse immunitaire normale et protectrice de l'organisme, caractérisée par un ensemble de réactions. Elle a pour objectif de défendre le corps d'une agression (infection, traumatisme, lésion ou corps étrangers) et est régulée par diverses molécules, appelées médiateurs de l'inflammation, qui sont pro- ou anti-inflammatoires. Lorsque l'inflammation est mal contrôlée, elle peut être à l'origine de maladies inflammatoires chroniques (89).

Le processus inflammatoire met en place des cascades de réactions engendrant l'activation de nombreuses molécules. Au niveau des membranes cellulaires, la libération d'acide arachidonique, acide gras polyinsaturé, entraine la synthèse de plusieurs médiateurs de l'inflammation par deux principales voies oxydatives. La première est la voie des cyclo-oxygénases 1 et 2 (COX-1 et COX-2) qui entraine la formation de prostaglandines (PG) et de thromboxanes (TX). La deuxième est la voie de la lipoxygénase (LOX) qui engendre la synthèse de leucotriènes (LT).
Ce processus induit également l'activation de protéines, les MAP Kinases (mitogen-activated protein kinases) engendrant la transcription de gènes pro-inflammatoires à partir du facteur nucléaire NF-κB (Nuclear Factor kappa B).
Parallèlement, lors d'une inflammation, la production de monoxyde d'azote (NO), radical libre obtenu après l'oxydation de l'arginine (un acide aminé), peut être très importante et à l'origine d'une vasodilatation, d'un œdème ainsi que d'un érythème (84).

Toutes ces molécules sont pro-inflammatoires et ont un rôle important dans l'inflammation. L'inhibition de leur production peut permettre de contrôler le processus inflammatoire. Il a été prouvé que certaines HE possèdent une activité anti-inflammatoire, cependant très peu d'informations existent concernant leur mécanisme exact. Cette activité anti-inflammatoire peut être attribuée non seulement à l'activité anti-oxydante des HE (en piégeant les radicaux libres), mais également à leurs interactions dans la cascade de signalisation, impliquant les médiateurs de l'inflammation et l'expression de gènes pro-inflammatoires. En effet, certaines molécules présentes dans les HE sont capables de moduler la réponse inflammatoire de l'organisme en jouant sur les différents médiateurs (28).

Prenons l'exemple de l'α-pinène, monoterpène très présent dans les HE de conifères. D'après une étude réalisée chez la souris, cette molécule possède une activité anti-inflammatoire permise par la suppression d'importants médiateurs de l'inflammation. Elle permet la diminution significative de la production de certaines cytokines pro-inflammatoires, comme l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale (TNF-α) ; elle diminue la production de NO et inhibe l'enzyme responsable de sa production ; elle inhibe l'expression de l'enzyme COX-2 à l'origine de la synthèse de prostaglandine E_2 (PGE_2) ; et enfin, elle inhibe la voie du NF-κB. L'α-pinène présente donc un grand potentiel en tant que nouveau médicament et pourrait être utile dans le traitement des maladies inflammatoires (89).

D'autres composés présents dans les HE sont également capables de moduler la réponse inflammatoire en jouant sur différentes cibles (Figure 48) notamment les sesquiterpènes, d'autres monoterpènes et quelques esters terpéniques.

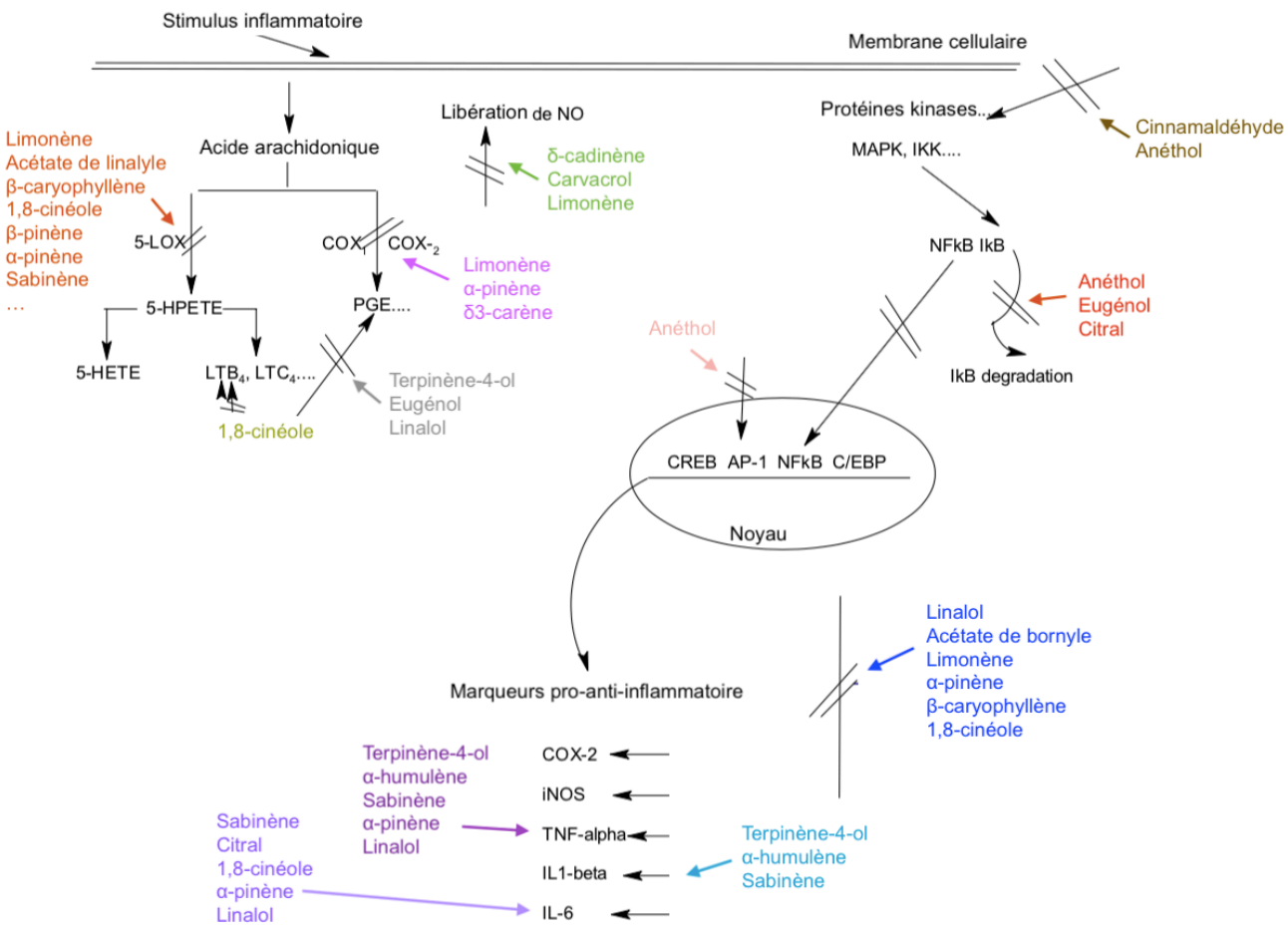


Figure 48. Schéma d'ensemble des principales cibles et des molécules agissant sur la réponse inflammatoire (28)

En fonction de sa composition chimique, une HE peut être anti-inflammatoire soit en affectant le métabolisme de l'acide arachidonique, soit en modulant la production de certaines cytokines ou l'expression de gènes pro-inflammatoires.

Cette activité anti-inflammatoire peut varier de façon importante en fonction de la composition chimique de l'HE (28).

2.4.1.2. Les HE de conifères étudiées

Les HE riches en molécules monoterpéniques sont rubéfiantes et possèdent des propriétés antalgiques et anti-inflammatoires. Certaines d'entre elles peuvent être très efficaces sur les douleurs ou les inflammations (79). Compte tenu de leur composition,

les HE issues des aiguilles de conifères présenteraient des propriétés anti-inflammatoires intéressantes.

Après des essais sur l'animal et une expérimentation chez l'homme, il a été montré que certaines HE de pins sont anti-inflammatoires et antalgiques. Les HE de sapin blanc, d'épicéa et de pin sylvestre peuvent être utilisées par voie externe en rhumatologie, dans les douleurs inflammatoires comme les douleurs articulaires (90). Par exemple, l'HE de pousses de pin sylvestre est anti-inflammatoires et ses cibles sont l'IL-1 et -6, le NO, les COX2, LOX et le TNF- α (28).

De nos jours, la masso-aromathérapie est intéressante dans la lutte contre ces états inflammatoires et les HE de conifères peuvent entrer dans la composition de préparations à usages cutanées (crèmes, gels, huiles). Leurs concentrations ne devront pas excéder 20% en raison des risques d'irritations qu'elles pourraient entrainer (90).
D'autres HE de conifères sont utilisées en traumatologie. L'épinette noire par exemple est connue pour ses propriétés anti-inflammatoires. Son HE riche en monoterpènes possède des propriétés anti-inflammatoires et est indiquée dans les rhumatismes ainsi que dans l'acné, le psoriasis, l'eczéma sec et les parasitoses cutanées (91).

2.4.2. Propriétés antispasmodiques

Une substance est dite antispasmodique ou spasmolytique, lorsqu'elle atténue ou élimine les spasmes musculaires, contractions brusques et involontaires d'un ou de plusieurs muscles.

Les HE riches en molécules monoterpéniques, notamment en α-pinène, ont montrées des propriétés antispasmodiques importantes. Une étude a souligné le puissant effet relaxant de ces molécules sur l'iléon de cochon d'Inde (92).
Les HE riches en esters monoterpéniques présentent aussi de telles propriétés antispasmodiques. L'acétate de bornyle par exemple présente un intérêt dans les spasmes respiratoires et est intéressant dans les toux persistantes (3).

Aussi il a été mis en évidence que l'HE de pin sylvestre présente des propriétés antispasmodiques et qu'elle serait efficace pour calmer certains troubles digestifs comme les flatulences par exemple (60)(84)(93).

2.5. Propriétés olfactives des HE

Les odeurs ont toujours accompagnés l'Homme dans son environnement. Une odeur que l'on apprécie est agréable et peut rendre une atmosphère propice à la relaxation. En revanche une odeur désagréable est repoussante et peut engendrer des comportements d'éloignement. Chaque odeur ne laisse donc personne indifférent et peut même modifier le comportement de certains. L'aromathérapie associe en général les gestes de se soigner tout en se faisant plaisir (3).

2.5.1. L'olfactothérapie

L'olfactothérapie est une méthode thérapeutique qui permet d'accéder aux émotions et à l'inconscient d'une personne grâce à des odeurs. Cette thérapie se base sur l'évocation de souvenirs enfouis (94). C'est l'une des techniques psychocorporelles souvent préconisée dans la lutte contre certaine démence notamment la maladie d'Alzheimer. Les HE dans l'olfactothérapie sont largement utilisées et cela a récemment été mis en place dans quelques hôpitaux de la région parisienne (6).

Une fois que l'HE est inhalée, un signal biologique est transmis au système limbique ainsi qu'à l'hypothalamus, via le bulbe olfactif. Ces différentes informations amènent le cerveau à libérer des neuromédiateurs comme la sérotonine, la noradrénaline ou des endorphines. Une simple inhalation d'HE peut améliorer le bien-être émotionnel d'une personne et la relaxation de son corps (88). Ces effets sur le cerveau et sur le comportement ont été démontrés (79).

Toutes les HE de résineux possèdent une odeur balsamique caractéristique et résineuse en général. Selon les espèces, et donc selon les compositions chimiques, la

fragrance de l'HE se trouve modifiée (3). Parmi toutes les huiles de pin, de sapin et d'épicéa, c'est peut être l'HE d'*Abies alba* qui possède l'odeur la plus agréable et la plus caractéristique des forêts. Elle possède une odeur aromatique intense et rafraîchissant. En Europe, ces HE sont appréciées et utilisées pour parfumer ou désodoriser une pièce par exemple (95).

2.5.2. L'aromatisation

Aujourd'hui, les HE peuvent également être utilisées dans le domaine de la cuisine pour le plaisir des papilles, on appelle ce principe l'aromatisation (3). Ajouter en quantités infimes dans des préparations culinaires, les HE permettent d'enrichir certaines recettes.

3. Toxicités et précautions d'emploi des HE de conifères

3.1. Toxicités des HE de conifères

3.1.1. Réactions allergiques

3.1.1.1. Quelques généralités

L'allergie aux HE est majoritairement d'expression cutanée. Au contact des peaux sensibles, certaines molécules présentes dans les HE de conifères peuvent entrainer une réaction anormale du système immunitaire avec une libération d'histamine (3). Les symptômes cliniques se présentent en général sous forme d'irritations, de rougeurs, d'éruptions cutanées ou bien d'eczéma.
Cette réaction allergique est provoquée par un contact direct entre la peau d'une personne sensible et la substance allergisante appelée allergène (96).

Pour développer une allergie de contact, une première étape de sensibilisation est nécessaire. Lors de cette étape, la molécule allergisante, ou haptène, pénètre dans

l'épiderme où elle se lie à des protéines présentes à la surface des cellules. Ce complexe migre de l'épiderme vers un ganglion lymphatique où il est présenté et identifié par l'organisme, alors sensibilisé. Lors d'un prochain contact avec l'haptène, ce même allergène est immédiatement reconnu, ce qui est à l'origine d'une réaction inflammatoire responsable de la réaction allergique (3).
Plusieurs allergènes de contact ont été identifiés par le comité scientifique européen sur la sécurité des consommateurs (CSSC). Ce sont principalement les composants de parfum et les conservateurs les plus fréquemment rencontrés (42)(97).

La substance allergène peut être une molécule naturellement présente dans l'HE ou une molécule synthétisée à partir d'une autre. Par exemple les monoterpènes, principaux constituants des HE des aiguilles de conifères seraient faiblement allergènes et réagiraient lentement avec l'oxygène de l'air pour former de nouveaux composés : les hydroperoxydes ou produits d'oxydation à l'air, eux aussi allergènes. Ce processus d'oxydation est également appelé autoxydation (96).
Des études ont montré que l'oxydation du limonène, molécule allergisante et présente dans beaucoup d'HE, entraine la formation de plusieurs produits d'oxydation, potentialisant les réactions allergisantes et l'inflammation cutanée (Figure 49) (3).

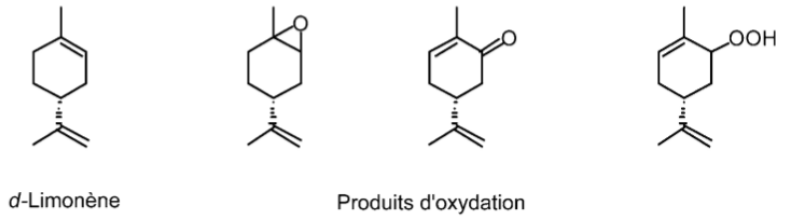


Figure 49. Structure du limonène et de quelques produits de son oxydation (96)

En raison de la présence de limonène et autres terpènes dans leur composition, les HE de conifères sont susceptibles de provoquer des réactions allergiques cutanées.

La présence de ces molécules doit obligatoirement être mentionnée sur l'étiquette des produits contenant ces HE et mis sur le marché, de façon à en informer les utilisateurs ; cela constitue une mesure de santé publique.

3.1.1.2. Précautions avec les HE de conifères

D'après les analyses chromatographiques réalisées au cours de ce travail, l'HE de sapin blanc serait l'HE la plus allergisante (Tableau VIII).

Tableau VIII. Liste des substances allergènes présentes dans les HE de conifères du massif Jurassien (en %)

Espèces \ Allergènes	Limonène	Linalol	Citronellol	Géraniol	Total
Sapin blanc					
Décembre 2017.	46,17%	0,03%	0,01%	/	46,21%
Février 2018.	51,19%	0,03%	0,02%	/	51,24%
Mai 2018.	57,70%	0,02%	0,01%	/	57,73%
Juin 2018.	46,76%	0,03%	0,04%	/	46,83%
Épicéa commun					
Octobre 2018.	9,67%	/	0,03%	/	9,70%
Pin sylvestre					
Décembre 2017.	1,15%	0,02%	/	/	1,17%
Sapin de Douglas					
Décembre 2017.	3,12%	0,08%	0,27%	0,01%	3,48%

Précautions ➔ avant la première utilisation de l'HE, il est conseillé de pratiquer une touche d'essai sur une petite surface de la peau. Pour cela, quelques gouttes du produit sont déposées à l'intérieur du poignet ou au niveau du pli du coude par exemple. Puis il faut observer si une réaction indésirable apparaît dans les 24 à 48 heures qui suivent (44)(91). L'application d'un produit cosmétique à base d'HE doit toujours se faire sur une peau saine en évitant le contact avec les muqueuses et les yeux.

3.1.2. Dermocausticité

Une HE dermocaustique est irritante et, lorsqu'elle est utilisée pure, peut entrainer des lésions de la peau et des muqueuses exposées. Contrairement à l'allergie, la dermocausticité n'est pas une réaction du système immunitaire.
Il peut s'agir d'une simple irritation, d'une rougeur cutanée ou d'une nécrose avec destruction des tissus, dans les cas les plus graves. L'intensité de cette réaction dépend de la sensibilité individuelle, de la dose et de la composition de l'HE (3).

Certaines familles biochimiques de molécules sont plus agressives que d'autres (phénols, aldéhydes aromatiques). Les HE qui contiennent ces molécules doivent impérativement être diluées dans une HV avant leur application locale. L'application de ces HE reste à éviter sur les peaux sensibles (98).
Les HE les plus concernées par cette toxicité sont l'HE d'Origan (*Origanum compactum*), de Cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*), de Sarriette des montagnes (*Satureja montana*), de Giroflier (*Eugenia caryophyllus*) et de Thym vulgaire à thymol (*Thymus vulgaris CT thymol*).

Les HE contenant des carbures monoterpéniques, notamment le limonène, sont également susceptibles de provoquer l'apparition d'une irritation cutanée avec érythème, prurit et sensation de chaleur (3). L'HE de pin sylvestre est irritante (43), c'est également le cas des HE de sapin, d'épicéa et de Douglas compte tenu de leur composition.

Précautions ➔ les HE dermocaustiques doivent être très diluées à 80% dans de l'HV avant leur application sur la peau.

3.1.3. Néphrotoxicité

Les reins ont le pouvoir d'éliminer de nombreuses substances du corps, notamment les HE. Cependant, certaines HE administrées par voie orale sur de longues périodes peuvent provoquer l'irritation et la dégradation des néphrons, unités fonctionnelles du rein.

Les HE riches en composés terpéniques, notamment l'α-pinène, sont les plus concernées (3). En effet ces HE stimulent de façon importante les cellules rénales à l'origine de leur inflammation (20). Ces cas de toxicité rénale sont rares mais peuvent survenir lors de surdosages.

Précautions ➔ les personnes dialysées ou souffrant d'insuffisance rénale, ainsi que les personnes âgées, ne doivent pas utiliser les HE de conifère par voie orale. Leur utilisation sur de longues périodes est à proscrire.

3.1.4. Neurotoxicité

Certaines molécules passent au travers de la barrière hémato-encéphalique (BHE) et ont tendance à s'accumuler au niveau cérébral, c'est le cas des cétones par exemple. Ces molécules possèdent une forte affinité pour les lipides cérébraux, et par une action lipolytique, elles attaquent et déstructurent les gaines de myéline des neurones, provoquant ainsi des perturbations électriques. Elles peuvent être responsables de troubles neurologiques (convulsions, agitations, somnolences), d'un coma voir même de la mort dans les cas les plus extrêmes (20).

L'usage exagéré de l'HE d'*Abies alba* peut être à l'origine d'une neurotoxicité en raison de la présence d'acétone dans sa composition (2).

Précautions ➔ l'utilisation de ces HE par la voie orale doit être limitée. En raison de l'immaturité de leur SNC et de la BHE moins efficace que celle d'un adulte, les enfants sont très sensibles aux HE convulsivantes, par conséquent l'utilisation de ces HE est contre-indiquée chez l'enfant. Elles sont également interdites chez la femme enceinte ou allaitante puisque les cétones passent très bien dans le lait maternel. Aussi, il est primordial de ne pas utiliser ces HE neurotoxiques chez les personnes ayant un seuil épileptogène abaissé.

3.2. Contre indications & précautions d'emploi

Le rôle du pharmacien d'officine est très important dans l'aromathérapie et prend tout son sens lors de la délivrance d'une HE et des conseils qui y sont associés.
Pour que l'utilisation d'une HE soit efficace et sans danger, le pharmacien doit toujours préciser que le respect de la voie d'administration, de la posologie et de la durée de traitement est primordial (43).

Par mesure de précaution, l'utilisation des HE de conifères est contre-indiquée chez la femme enceinte ou allaitante. Aucune donnée concernant la potentielle activité tératogène de l'HE de conifère n'a été publiée. Cependant, une étude sur l'embryo-fœto-toxicité de l'α-terpinène chez le rat démontre une toxicité significative à hautes doses sur le fœtus (60 mg d'α-terpinène par kilogramme).
Le pharmacien doit rappeler que les flacons d'HE de conifères doivent toujours être tenus hors de la portée des enfants et que leur utilisation est à proscrire chez l'enfant de moins de 7 ans ainsi que chez la personne asthmatique, épileptique ou allergique (38). La diffusion de l'HE de conifère dans l'atmosphère ne doit pas dépasser une durée de 1 heure par jour et est contre-indiquée pendant le sommeil.

Lors d'une application cutanée, les HE d'aiguilles de conifères doivent toujours être diluées dans une HV de façon à minimiser les risques d'irritation. En cas d'apparition d'une réaction indésirable suite à l'utilisation d'une HE de conifères sur la peau, il ne faut en aucun cas utiliser un produit aqueux mais il est conseillé d'utiliser une HV qui permettra de diluer l'excès d'HE et d'éviter ainsi son passage cutané en trop grande quantité (43).
Finalement, les HE de conifères des montagnes du Jura ne doivent pas être utilisées par voie interne. Il est en effet recommandé d'éviter cette voie puisque le rapport « bénéfice / risque » n'est pas connu et qu'aucune donnée n'existe à ce jour. En cas d'ingestion accidentelle d'une grande quantité d'HE de conifères, il convient de contacter le centre antipoison de sa région rapidement et de ne pas faire vomir le patient ni lui donner de lait (6). Dans certain cas, une mise en observation à l'hôpital peut s'avérer nécessaire.

PARTIE 3.

Utilisations des HE de conifères

Produits commercialisés & mises sur le marché de produits locaux

1. Résumés des indications des HE de conifères

1.1. HE d'aiguilles de sapin blanc

L'HE de sapin blanc possède de nombreuses indications et peut être utilisée par différentes voies d'administration (Tableau IX).

Tableau IX. Utilisation de l'HE d'aiguilles de sapin blanc (55)

Voie d'administration	Propriétés	Indications
Orale – Bain + **Cutanée ++** **Inhalation ++** **Diffusion +++**	Antiseptique aérien Anti-infectieux respiratoire Décongestionnant respiratoire, antitussif, balsamique, expectorant, mucolytique Anti-arthrosique Stimulant, renforce l'immunité	**Pathologies respiratoires** : rhume, bronchite, toux grasse… **Pathologies inflammatoires** : arthrose, rhumatisme, douleur musculaire… **Fatigue nerveuse & physique :** asthénie, faiblesse musculaire… **Assainir / parfumer l'air**

1.2. HE d'aiguilles d'épicéa commun

L'HE d'épicéa commun est peu connue et très peu étudiée. Elle possède tout de même des propriétés thérapeutiques intéressantes (Tableau X).

Tableau X. Utilisation de l'HE d'aiguilles d'épicéa commun (55)

Voie d'administration	Propriétés	Indications
Orale – **Cutanée ++** **Inhalation +++** **Diffusion +++**	Antiseptique aérien Anti-infectieux Décongestionnant respiratoire, antitussif, balsamique, expectorant, mucolytique Antispasmodique Tonifiant, stimulant	**Pathologies respiratoires** : sinusite, bronchite, toux grasse… Pathologies inflammatoires Fatigue nerveuse & physique Assainir / parfumer l'air

1.3. HE d'aiguilles de pin sylvestre

Parmi les quatre HE étudiées dans ce travail, l'HE de pin sylvestre est de loin la plus connue et la plus utilisée pour ses nombreuses propriétés (Tableau XI).

Tableau XI. Utilisation de l'HE d'aiguilles de pin sylvestre (55)

Voie d'administration	Propriétés	Indications
Orale + Bain ++ **Cutanée ++** **Inhalation +++** **Diffusion +++**	Antiseptique aérien Anti-infectieux (antibactérien/antifongique) Décongestionnant respiratoire, balsamique, expectorant, mucolytique Analgésique percutané, rubéfiant Effet *cortison-like*, tonifiant, stimulant	**Pathologies de la sphère ORL et respiratoires** : laryngite, sinusite, bronchite, rhume, toux grasse… **Pathologies inflammatoires** : rhumatisme, sciatique, lumbago, psoriasis… **Fatigue nerveuse & physique** : asthénie importante, hypotension, épuisement nerveux, dépression **Assainir / parfumer l'air**

Cette HE possède un grand nombre d'autres propriétés beaucoup moins connues. Elle serait antidiabétique, stimulante sexuelle pour l'homme, décongestionnante lymphatique et utéro-ovarienne, ainsi que diurétique et antiseptique urinaire, efficace en cas d'infection urinaire (60)(84)…

Cette HE, notamment utilisée en savonnerie et en parfumerie, est très utilisée par voie cutanée ou par voie respiratoire (3). Elle présente également un grand intérêt par voie interne. Administrée par voie orale sur une courte période, elle entre dans la composition de diverses spécialités à visées respiratoires, retrouvées à l'officine. La voie rectale a aussi pu montrer son efficacité dans ces pathologies (99).

1.4. HE d'aiguilles de sapin de Douglas

L'HE de Douglas est assez peu connue mais possède tout de même quelques propriétés intéressantes (Tableau XII).

Tableau XII. Utilisation de l'HE d'aiguilles de sapin de Douglas (55)

Voie d'administration	Propriétés	Indications
Orale – Olfaction ++ Cutanée +++ Diffusion +++	Antiseptique Mucolytique, expectorant Effet *cortison-like*, tonifiant, stimulant digestif et lymphatique	**Pathologies respiratoires** : sinusite, bronchite, rhume, toux grasse… **Assainir / parfumer l'air**

Cette HE est principalement utilisée dans la désinfection des locaux en diffusion atmosphérique, en association avec d'autres HE, comme l'HE de pamplemoussier par exemple (3).

2. Quelques exemples de produits retrouvés sur le marché

2.1. En cas d'affections des voies respiratoires

En raison de leur odeur balsamique et de leur propriétés antiseptiques, décongestionnantes et expectorantes, les HE de conifères sont principalement utilisées pour soulager les affections des voies respiratoires. Pour cette indication, elles peuvent être utilisées par différentes voies d'administration.

2.1.1. La voie externe

L'application des HE peut se faire en massage au niveau de la poitrine et du haut du dos, c'est à dire à proximité des voies respiratoires. Cette application locale permet

de libérer les bronches encombrées et facilite la respiration. A titre d'exemple, 2 gouttes d'HE peuvent être diluées dans 10 gouttes d'HV et associées ou non à d'autres HE anti-infectieuses, comme celle de ravintzara.

Il existe dans le commerce des spécialités à base d'HE de conifères et déjà prêtes à l'emploi. Chez Puressentiel® par exemple, il existe une gamme de produits à visées respiratoires et composée de plusieurs HE dont celle de pin sylvestre. Citons le baume respiratoire ou encore le bain douche non moussant (Figure 50)(100).

Figure 50. Gamme Respiratoire Puressentiel® : Baume, Bain douche (100)

2.1.2. La voie respiratoire

Cette voie d'administration est intéressante puisqu'elle permet une action directe des HE sur les voies respiratoires. L'inhalation sèche des HE de conifères est possible : une à deux gouttes d'HE sont déposées sur un mouchoir, celui-ci est respiré selon les besoins. Ces inhalations permettent de purifier, assainir et apaiser les voies respiratoires grâce aux nombreuses vertus de ces HE (3).

Dans la gamme Respiratoire de Puressentiel®, on retrouve des produits sous forme de spray aérien (à utiliser dans l'atmosphère en période d'agressions hivernales), d'inhaleur (enrichi en menthol et camphre pour aider à respirer plus librement) ou d'inhalation humide (à diluer dans un bol ou un inhalateur d'eau très chaude et à respirer). Ils permettent de lutter contre les désagréments de l'hiver en humidifiant et en dégageant les voies respiratoires (Figure 51)(100).

Figure 51. Gamme Respiratoire Puressentiel® : spray aérien, inhaleur, inhalation humide (100)

2.1.3. La voie interne

Pour la voie orale, des pastilles à sucer à base d'HE de résineux existent sur le marché. Par exemple, les pastilles respiratoires aux essences de pin sylvestre de Naturactive® Laboratoire Pierre Fabre, sont intéressantes dans les périodes hivernales et contribuent à faciliter la respiration (Figure 52)(101).

Figure 52. Naturactive® Pastille Respiratoire (101)

2.2. En cas d'épidémie hivernale et de fatigue de l'organisme

Les HE de conifères sont intéressantes lors d'épidémies hivernales, notamment pendant les périodes de grippe. Elles permettent de purifier et d'assainir l'atmosphère, en le débarrassant des potentiels souches pathogènes présentes dans l'environnement, tout en apportant des odeurs rafraichissantes. Ces HE sont aussi employées pour donner tonus et vitalité à l'organisme, compte tenu de leurs vertus énergétiques puissantes.

2.2.1. La diffusion atmosphérique

Les HE de conifères apportent une odeur fraîche, boisée et balsamique agréable et procurent une sensation de plaisir. Elles peuvent être associées à d'autres HE (mandarine ou orange douce).
Quelques gouttes d'HE dans un diffuseur suffisent. On conseille en général 15 minutes de diffusion par heure et au maximum une heure de diffusion par jour (soit 15 minutes, quatre fois par jour) dans une pièce vide de toute présence.

Dans le commerce il existe des sprays assainissant respiratoire, prêts à l'emploi et à vaporiser dans les pièces de la maison. Par exemple, le spray assainissant de la marque Weleda® (Figure 53) assainit, purifie l'air et aide à respirer plus librement. Sa formule est composée de plusieurs HE dont celles de sapin blanc, de pin sylvestre et de pin maritime (*Pinus pinaster*) (102).

Figure 53. Weleda® Spray Assainissant Respiratoire (102)

2.2.2. La voie externe

Les HE de conifères peuvent être administrées en massage du bas du dos (au niveau des glandes corticosurrénales), le long de la colonne vertébrale, ou sous les pieds, dans le but de stimuler l'organisme.
Pour cela, 2 gouttes d'HE peuvent être mélangées à 10 gouttes d'HV. Cette application est à éviter chez le patient ayant une insuffisance rénale.

Ces HE peuvent aussi être utilisées en bains aromatiques. Des spécialités existent dans le commerce (Figure 54). On retrouve par exemple l'Huile de Bain Tonus de Puressentiel® ou encore le Bain Revitalisant au Sapin de Weleda®.
Ces soins apportent de grands bienfaits pour le corps et l'esprit. Leurs odeurs vivifiantes procurent une sensation de paix et de plénitude et contribuent à dynamiser le corps et l'esprit (100)(102).

Figure 54. Puressentiel® Bain Douche Tonus, Weleda® Bain revitalisant au Sapin (100)(102)

2.2.3. La voie interne

Dans les cas de baisse de la concentration et de la mémoire, la voie orale peut être utilisée exceptionnellement pour certaines HE, à raison d'une seule goutte dans du miel ou sur un comprimé neutre, jusqu'à 3 fois par jour pendant 7 jours (59).

Une spécialité à base d'HE de pin sylvestre existe, de la marque Pranarôm (Figure 55). Il s'agit d'une solution constituée d'un mélange de plusieurs HE sélectionnées pour leurs actions tonifiantes, assainissantes, purifiantes et apaisantes. Cette solution tonifie l'organisme, stimule les défenses naturelles et soulage les gorges irritées.
Elle peut s'utiliser par voie orale (en mélange avec du miel ou une HV) pour la gorge irritée, en friction sur le thorax et le dos pour les soins de la peau ou pour renforcer les défenses de l'organisme, en diffusion atmosphérique pour profiter des bienfaits des HE et humidifier les lieux de vie, ou encore en inhalation pour respirer plus librement et purifier l'atmosphère (103).

Figure 55. Pranarôm® Pranaforce Résistance & Défenses Naturelles (103)

2.3. En cas de douleurs

D'après leurs compositions, les HE de sapin blanc, d'épicéa commun et de pin sylvestre possèderaient également des propriétés antalgiques, anti-inflammatoires et antispasmodiques pouvant être mises à profit pour soulager certains types de douleurs. La voie cutanée est principalement utilisée, soit en massage, soit en bain aromatique.

Les HE de conifères peuvent être administrées par la voie cutanée, en massage, au niveau d'une zone douloureuse, une articulation par exemple. Elles devront d'abord être diluée dans une HV (2 gouttes d'HE dans 15 gouttes d'HV), en association ou non à d'autres HE anti-inflammatoires, comme l'HE de gaulthérie par exemple.
Les HE de conifères peuvent aussi être utilisées en bain aromatique, diluées à un support neutre.

3. Les productions locales d'Aromacomtois

3.1. Généralités sur le projet

3.1.1. Introduction

Parallèlement aux productions d'HE d'aiguilles de résineux provenant du massif Jurassien, Aromacomtois fabrique d'autres produits à base de ces HE, notamment

celles issues du sapin blanc. Ainsi, des confiseries, des cosmétiques mais aussi des parfums d'ambiance sont produits puis mis sur le marché (45).

3.1.2. Organisation des productions

La réalisation de ces productions se fait suivant deux procédés différents. Certains produits sont fabriqués directement par Aromacomtois, c'est le cas du parfum d'ambiance ainsi que de l'huile de massage.
Pour les autres produits, ce sont des fabricants de proximité qui se chargent des productions suivant le principe de la sous-traitance, c'est le cas des confiseries et des savons. Selon la loi n°75-1334, « *la sous-traitance est l'opération par laquelle un entrepreneur confie par un sous-traité, et sous sa responsabilité, à une autre personne appelée sous-traitant, l'exécution de tout ou partie du contrat d'entreprise ou d'une partie du marché public conclu avec le maître de l'ouvrage* » (104).

3.1.3. Les bonnes pratiques & l'agriculture biologique

3.1.3.1. Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF)

En assurance qualité, lors de la production d'un produit de santé, les BPF ont pour but d'obtenir qualité, efficacité thérapeutique et sécurité sanitaire. Ces BPF peuvent être résumées par la règle des « 5 M » qui est la suivante : **M**embre du personnel qualifié et formé / **M**atériel de qualité / **M**ilieu et locaux adaptés et entretenus / **M**éthode validée et tracée sous la forme de procédure / **M**atière première correctement identifiée et conforme aux référentiels, en vue d'obtenir des produits finaux de qualité (105). En aromathérapie, la culture et la récolte de la matière première ne font pas partie des BPF mais font seulement l'objet de recommandations (6).

Ces dernières années, suite à la révolution « bio », « environnement sain » et « développement durable », l'industrie mondiale utilisant les plantes aromatiques et médicinales s'est développée de manière exponentielle (66).

3.1.3.2. L'agriculture biologique

3.1.3.2.1. L'état de la plante aromatique

Une plante aromatique cultivée avec des pesticides, herbicides, insecticides, fongicides et autres engrais chimiques ne peut garantir la production d'une HE de qualité médicinale 100% pure et naturelle. La contamination des HE par ces produits est assez fréquente et atteint souvent des niveaux élevés. C'est pour cette raison que des règles concernant les pratiques agricoles autorisées et la transformation des produits végétaux bruts en HE ont été fixées (6).

Dans ce travail sur les résineux du massif Jurassien, l'ONF assure qu'aucun traitement pesticide n'a été répandu dans les forêts où se font les récoltes.

3.1.3.2.2. La certification biologique

Un critère de certification biologique est un critère qualitatif très important lors de la production d'une HE surtout lorsque celle-ci est utilisée à visée médicale.

- **Le label** « **A**griculture **B**iologique » : **AB**
  Afin d'assurer l'authenticité d'une certification biologique, le label AB garantit le respect des règles de culture, de cueillette (que ce soit pour les plantes cultivées et les plantes sauvages), de préparation et de contrôle. Ces étapes font l'objet de vérifications par des organismes, tierce partie et arbitre indépendant, comme ECOCERT, chargé de contrôler les installations, les parcelles, les bâtiments, mais aussi les méthodes de fabrication, les ingrédients ainsi que les emballages et les transports. Si toutes les normes sont respectées, alors ECOCERT délivre une licence de conformité pour chaque produit, valable de 12 à 18 mois (6).

- **Le label** « **Nature & Progrès** »
  Sur toutes les productions d'Aromacomtois figurent le nom de ce label (Figure 56). Il s'agit d'un label participatif, basé sur le volontariat d'une association de professionnels et de consommateurs unis et luttant pour une agriculture biologique de proximité, respectueuse des Hommes et de l'environnement (106)(107).

Figure 56. Logo de "Nature & progrès" (106)

« Nature & Progrès » est le label le plus transparent du marché bio. Beaucoup moins connu que le label AB, il serait encore plus exigeant, notamment en ce qui concerne les critères de qualité des cultures végétales ainsi que les critères éthiques, environnementaux et sociaux. Ce label vise à améliorer les techniques et les pratiques culturales et promeut l'approvisionnement local ainsi que le développement des circuits courts.

La mention « Nature et Progrès » est attribuée à partir d'un cahier des charges et d'une charte qui prend en compte les aspects environnementaux, sociaux et économiques des productions. Cette charte, accessible sur internet, garantit à la fois des produits sains et de bonne qualité, la préservation et l'entretien de notre planète ainsi que le respect de chaque individu en assurant solidarité et entraide (6). Les produits qui portent cette mention sont obtenus sans engrais chimique ni produit de synthèse, pour mieux protéger l'environnement et préserver la santé de l'Homme (107).

3.2. Les produits obtenus après distillation

3.2.1. Les HE de conifères du massif Jurassien

Afin de garantir la qualité de ses produits, Aromacomtois veille à porter toute son attention sur la plante et son environnement. Les récoltes sont faites dans le respect de l'environnement à partir d'une matière première de qualité. Le procédé d'extraction utilisée est toujours l'hydro-distillation et est reconnu pour l'utilisation thérapeutique des HE. Les conditions de conservation des HE sont contrôlées afin de garantir leur bonne stabilité au cours du temps (6).

Les HE produites par Aromacomtois sont donc « 100% pures et naturelles ». Elles ne subissent aucun traitement chimique ou physique qui pourraient entrainer une

modification de leur composition naturelle. Elles sont non modifiées, non diluées, non déterpénées, non rectifiées, non reconstituées et ne font pas l'objet de « coupage » avec un solvant.

3.2.1.1. Agitation et stockage des HE

Après décantation et filtration, les HE sont agitées pendant 5 minutes grâce à un système de rotor aimanté. S'en suivent 20 minutes de repos, puis une nouvelle agitation de 5 minutes. L'intérêt de cette manipulation est d'augmenter la « note olfactive », autrement dit la fragrance de l'HE, terme très général qui caractérise tout composé volatil odorant et souvent synonyme de « bonne odeur ». Cette senteur est très importante puisque c'est elle qui caractérise l'HE au premier abord (14)(87).

Après agitation, les HE sont stockées dans des flacons opaques et étanches de 1 L, et conservées dans une cave à vin obscure, à une température de 12°C, en attendant leur analyse et leur utilisation pour la production des produits secondaires. Sur la période d'un an, un peu plus de 80 L d'HE ont été produites par la société.

3.2.1.2. Mise en flacon des HE

A partir des flacons de 1 L sont obtenus 100 petits flacons de 10 mL (Figure 57). Ils sont en verre ambré, de façon à protéger l'HE de la lumière, et étanches compte tenu de la grande volatilité des HE qui pourraient s'éliminer par évaporation.

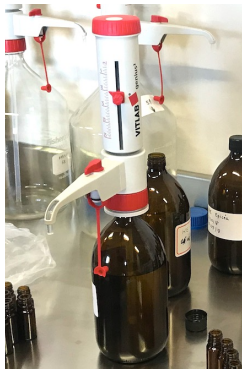


Figure 57. Conditionnement des flacons de 10 mL à partir des flacons de 1 L

3.2.1.3. Vente en l'état des HE

Ce sont ces petits flacons qui sont vendus en pharmacie ainsi que dans certaines enseignes bio de la région (Figure 58) (45)(108).

Figure 58. Flacons d'HE de conifères du massif Jurassien

Certaines HE seulement sont soumises à des restrictions de délivrance et appartiennent au monopole pharmaceutique. Elles sont mentionnées à l'article D.4211-13 du Code de la Santé Publique (CSP) relatif à la liste des HE dont la vente au public est réservée aux pharmaciens (6)(109).

Concernant les autres HE, leur vente n'est pas réglementée et n'est pas réservée exclusivement au pharmacien, elles peuvent être disponibles dans différents réseaux de distribution. C'est le cas des HE de conifères que l'on retrouve dans quelques magasins bio de la région ainsi qu'en pharmacie. Pour que ces HE puissent être vendues en pharmacies, chaque lot produit doit être analysé par chromatographie, témoin de sa qualité.

3.2.2. Les HA de conifères du massif Jurassien

À côté des HE, chaque distillation d'aiguilles de conifères permet l'obtention d'une importante quantité d'HA. Ces produits aqueux, constitués d'eau et de quelques molécules aromatiques, sont plus ou moins aromatisés selon la matière première utilisée (6). Les HA peuvent posséder des propriétés intéressantes et constituer un

recours précieux lorsque l'emploi des HE se révèle délicate. Ils sont surtout utilisés lors d'affections de la peau ou des muqueuses (3).

3.2.2.1. En théorie…

Les HA de conifères sont peu connus et il existe très peu de données scientifiques concernant leurs utilisations possibles. Ces HA pourraient présenter plusieurs intérêts.
La plupart serait utilisée pour soulager les affections de la sphère respiratoire, adoucissant et libérant ces voies. Ces HA pourraient être intéressants dans l'hygiène buccale (en gargarisme), les extinctions de voix (en collutoire) ainsi que dans le lavage des plaies et des muqueuses. Ils seraient de bons nettoyants cutanés notamment pour les peaux grasses à tendance acnéiques (3). Appliqués sur les cheveux, ils les rendraient brillants. Fortifiants et stimulants, les HA de conifères pourraient être bus, dilués dans de l'eau, comme tisane ou boisson énergétique (6). Enfin, utilisés en vaporisation sur le pelage d'un animal domestique, ces HA permettraient de redonner du lustre au pelage, de le protéger contre les parasites, d'aider à stabiliser le sébum et éliminer les pellicules.

3.2.2.2. … en pratique

Concernant les HA obtenus au cours de la distillation des aiguilles de conifères par Aromacomtois, seulement les HA de sapin blanc sont conservés et stockés dans des containers en vue d'une valorisation. Les autres HA ne sont pas utilisés.

Ultérieurement, les HA de sapin blanc sont répandus sur des vignes bio, situées à Arbois dans le Jura, afin de rechercher leur action préventive et curative éventuelle sur une des principales maladies de la vigne, appelée mildiou et causée par le pseudo-champignon *Plasmopara viticola*. Ce pathogène se développe au printemps ou en été par temps chaud et pluvieux et infecte toutes les parties vertes de la plante. Cela a souvent un impact plus ou moins important sur la qualité et la quantité des récoltes, à

l'origine de pertes importantes de rendement y compris dans des conditions météorologiques favorables. Ce pathogène peut également être à l'origine d'un affaiblissement de la plante pour les années à venir. De nos jours et quelque soit l'endroit d'implantation des vignes, il n'est pas possible de produire des vins de qualité sans tenir compte de l'état de santé du raisin au moment de la vendange (110).

La lutte contre le mildiou nécessite souvent l'application régulière de fongicide. Concernant les vignes bio, le traitement efficace utilisable est la « bouillie bordelaise » (mélange d'eau, de sulfate, de cuivre et de chaux) additionnée de souffre. Dans le cadre de la valorisation des HA de sapin blanc, ceux-ci sont dilués à 50% dans l'eau de traitement des vignes. Les HA possèderaient un effet asséchant et acidifiant qui permettrait de limiter le développement des pathologies de la vigne.

Nous ne pouvons pas encore tirer de conclusion quant à cette utilisation de l'HA de sapin blanc sur les vignes. Des analyses en laboratoires sont actuellement en cours, les résultats permettront de connaître la composition de l'HA et de valoriser son utilisation.

3.2.3. La matière première végétale

En sortie d'alambic, les résidus encore chauds de matière première sont employés à proximité de la distillerie comme paillage. Cette réutilisation des résidus de conifères dans le processus agricole, en temps que compost, permet de boucler le cycle de production « biologique » d'Aromacomtois.

3.3. Les produits obtenus à base d'HE de sapin blanc

Compte tenu des différents rendements des productions et en raison de la grande présence de sapin dans le massif Jurassien, c'est l'HE d'aiguilles de sapin blanc qui représente le produit brut primaire d'Aromacomtois. C'est à partir de cette HE que d'autres produits sont confectionnés secondairement (Figures 59).

Figure 59. Quelques productions à base d'HE de sapin blanc du massif Jurassien

Toutes les matières premières utilisées pour la fabrication de ces produits sont à 100% issues de l'agriculture biologique.

3.3.1. Production d'un parfum d'ambiance

Un parfum d'ambiance et assainissant est fabriqué par Aromacomtois. A la fois agréable et assainissant, il possède une odeur caractéristique des forêts Jurassiennes. Il peut être pulvérisé dans l'atmosphère pendant les périodes hivernales pour assainir l'air ambiant ou pour reproduire l'« ambiance olfactive » des fêtes de fin d'année.
Ce parfum est composé d'alcool à 90°, d'eau florale de sauge sclarée permettant de fixer le parfum de l'HE et de 3,6% d'HE de sapin. La mise en flacon manuelle se fait après le mélange de tous les composés (Figure 60).

Figure 60. Mise en flacon des parfums d'ambiance produits à base d'HE de sapin blanc

Ce produit contient naturellement trois molécules potentiellement allergisantes qui sont le citronellol, le limonène et le linalol. Leur mention sur l'étiquette du produit est obligatoire.

3.3.2. Production de confiseries

Des confiseries, sous la forme de bonbons et de gommes, sont fabriquées suivant le principe de la sous-traitance par des confiseurs et produites à partir d'HE de sapin (Figure 61).

Figure 61. Confiseries produites à partir d'HE de sapin blanc

Leurs boites sont décorées par deux peintures représentant des paysages comtois, spécialement réalisées par Denis Bauquier, artiste de la région et célèbre pour ses peintures naïves.

Les bonbons cuits durs sont fabriqués à partir de sucre pure de canne blond, de sirop de glucose, de miel de sapin du Jura, de 0,2% d'HE d'*Abies alba* et de menthol.
Les gommes, elles, sont composées de gomme d'acacia, de miel de sapin du Jura, de sirop de glucose, de 0,7% d'HE d'*Abies alba* et de deux agents d'enrobage : l'huile de tournesol et la cire de carnauba qui donnent une surface brillante aux produits.

Ces confiseries auraient un intérêt dans le traitement des maux de gorge en raison du pouvoir adoucissant du miel et de l'effet décongestionnant et anti-inflammatoire de l'HE.

3.3.3. Production de cosmétiques

3.3.3.1. Généralités sur les produits cosmétiques

3.3.3.1.1. Définition

Un produit cosmétique est un produit de bien-être. D'après l'agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), « *un produit cosmétique correspond à toute substance ou tout mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaires, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes, ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles* » (111).

3.3.3.1.2. Mise sur le marché

Pour qu'un produit cosmétique puisse être mis sur le marché, la personne qui en est responsable, c'est à dire son fabricant, doit garantir que le produit est sûr pour la santé humaine lorsqu'il est utilisé comme il convient (112).
Pour cela, un dossier d'information sur le produit (DIP) doit être établi, conformément au Règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 30 Novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques (113). Ce DIP est formalisé et structuré en plusieurs parties autour de l'évaluation de la sécurité du produit.
Ce dossier doit être accessible à l'ANSM ainsi qu'à la direction générale de la concurrence, de la consommation et de la répression des fraudes (DGCCRF) en cas de demande. Il doit être conservé pendant 10 ans par la personne responsable.

Aussi, depuis 2013, tout produit cosmétique doit être notifié auprès de la Commission Européenne via un portail information : le CPNP (Cosmetic Products Notification Portal) avant sa mise sur le marché. Cette commission surveille, analyse le marché, informe les consommateurs et met des informations à disposition des centres anti-poisons et assimilés ; ces informations n'étant utilisées qu'à des fins médicales.

3.3.3.2. Production de savons

L'HE de sapin est envoyée à deux fabricants de savon qui, après un procédé de saponification à froid, produisent un savon liquide et un savon solide caractérisés par leur odeur de forêt, sans fragrance ni parfum de synthèse.

Cette réaction de saponification à froid, faite à température ambiante, est une réaction chimique entre un corps gras (huile d'olive) et une base (soude) à l'origine de la production d'un savon (corps gras saponifié) et de glycérine. L'huile d'olive est utilisée en excès afin d'obtenir des savons sur-gras qui permettront une bonne hydratation et un assouplissement de la peau (114). Elle est retrouvée dans les deux types de savons et est riche en acides gras mono-insaturés (acides oléiques) et en vitamines A, D, E, et K. Son utilisation est intéressante en cosmétique pour le soin du corps car elle convient aux peaux sèches et fragilisées. Elle est aussi beaucoup utilisée pour ses propriétés cicatrisantes (3).

Concernant la mise sur le marché de ces deux savons, leur DIP est établi et conservé par leur fabricant, ce sont eux les responsables des productions.

3.3.3.2.1. Savon liquide

Les savons liquides sont composés d'eau, d'huile de tournesol désodorisée, d'huile d'olive extra-vierge saponifiée, de glycérine et de 1,15% d'HE de sapin blanc (Figure 62).

Figure 62. Savons liquides à l'HE de sapin blanc

3.3.3.2.2. Savon solide

Le savon solide ou en pain, est composé de cocoate de sodium, d'eau, d'olivate de sodium, d'argania spinosa de sodium et de 2,55% d'HE de sapin blanc (Figure 63).

Figure 63. Savon solide à l'HE de sapin blanc du Jura

Le mélange des différents ingrédients s'épaissit puis est coulé dans des moules. La réaction de saponification est lente et nécessite un temps de séchage de deux mois avant son utilisation (114).

3.3.3.3. Production d'une huile de massage

3.3.3.3.1. Définitions

1 / Quelques mots sur le massage

Le mot « massage » provient de l'arabe « *mass* » qui signifie « toucher, palper ». Un massage correspond à l'exécution de mouvements des mains sur les parties du corps d'une personne (muscles, tendons, ligaments) dans le but d'améliorer la santé physique et psychique de cette personne.

Ce geste est utilisé depuis de nombreuses années pour certains soins thérapeutiques ou de rééducations, pour détendre et réduire des tensions physiques ou tout simplement pour le bien-être des Hommes.

Une multitude de pratiques existent : massages énergétique, relaxant, décontracturant, sensuel ou favorisant la circulation (93)(98).

Un massage peut être pratiqué par la personne profitant du massage, c'est l'automassage, ou par autrui ; avec ou sans huile de massage pour accompagner le geste.

2 / Les intérêts d'une huile de massage

Les huiles de massage sont notamment utilisées par les masseurs-kinésithérapeutes afin de faciliter le glissage en douceur des mains sur le corps du patient. Mais ces huiles de massage n'agissent pas uniquement au niveau de l'épiderme. En effet, suivant leur pouvoir de pénétration et leurs propriétés physico-chimiques, elles pourront être utilisées à des fins différentes (détente, santé, affinement d'une silhouette)…

3.3.3.3.2. Composition d'une huile de massage

1 / Une huile végétale (HV)

Une HV est une substance grasse, majoritairement constituée d'acides gras et obtenue à partir de graines et de fruits de diverses plantes oléagineuses. Elle peut être extraite de fruits (noix), de pépins (raisin), de noyaux (abricot) ou de graines (sésame) et est obtenue par pression à froid ou à chaud ou par extraction à l'aide de solvant. Seul le procédé par pression à froid permet d'obtenir une HV « bio, vierge et de qualité médicale » puisque le végétal n'est pas dénaturé (6).

Lors d'un massage, le choix de l'huile de massage a toute son importance puisque c'est son parfum, sa texture (sèche, grasse) ainsi que ses propriétés physico-chimiques (pénétration) qui déterminent la qualité de ce massage (87). Une HV est souvent responsable des propriétés de l'huile de massage qu'elle compose (98). En effet, toutes les huiles de massage n'entrainent pas les mêmes effets sur le corps. L'huile d'amande douce par exemple est nourrissante, assouplissante, apaisante et adoucissante, elle pourra être utilisée pour tous les types de peau. L'huile d'argan est également nourrissante, assouplissante et permet une protection cutanée contre le vieillissement et les irritations. L'huile d'arnica est intéressante comme base pour

les massages à visée décontracturante musculaire, anti-ecchymose ou anti-inflammatoire.

Contrairement aux HE, les HV ne sont pas volatiles mais fragiles et très sensibles à la lumière, à l'air et à la chaleur. En effet, tous ces facteurs peuvent provoquer l'oxydation de leurs acides gras, responsable de la production de molécules potentiellement toxiques pour l'organisme. Cette oxydation peut être visible par un changement de couleur ou d'odeur de l'HV. Afin d'éviter ce phénomène, les HV se conservent quelques mois à température ambiante dans un endroit sombre. Les huiles les plus sensibles devront être conservées au réfrigérateur après leur ouverture (115).

2 / Une huile végétale ET une huile essentielle

En plus de leur lipophilie, les HV sont neutres, c'est pourquoi elles servent souvent de base à la dilution des HE en aromathérapie (43).

Cette dilution a plusieurs avantages : elle permet l'affranchissement de la potentielle toxicité cutanée de l'HE et facilite largement la pénétration de l'HE et de ses principes actifs à travers l'épiderme, tout en prolongeant son efficacité.
De plus, l'ajout d'une HE à une huile de massage permet de potentialiser les bienfaits du massage, compte tenu des vertus de l'HE qui lui sont propres et qui permettent une synergie HE / HV très active (6).
Cet ajout tend également à améliorer les conditions olfactives, tactiles et biologiques du massage en évitant l'apparition d'une monotonie (116).

Cette dilution huileuse peut se faire à différentes concentrations suivant l'effet recherché sur le corps. Par exemple, pour une utilisation cosmétique d'une HE, sa dilution devra être de 1 à 3% dans une HV. Pour une action musculaire, la dilution sera de 5 à 10% dans une HV. Enfin, pour un effet antiseptique, la dilution utilisée sera comprise entre 40 et 50% (6).

3.3.3.3.3. L'huile de massage d'Aromacomtois

3.3.3.3.3.1. Composition

En raison de sa potentielle toxicité cutanée, l'HE de sapin du massif Jurassien ne doit pas être utilisée pure sur la peau. Il est indispensable de la diluer au préalable dans une HV avant toute application cutanée (3).
Pour cette raison, Aromacomtois a décidé de produire une huile de massage prête à l'emploi, à base de 6,55% d'HE de sapin blanc (Figure 64).

Figure 64. Huile de massage produite à base d'HE de sapin blanc

L'HE de sapin est diluée dans de l'huile de tournesol oléique à l'odeur plutôt discrète. Cette HV est intéressante comme base de massage puisqu'elle possède un très fort pouvoir de glisse. Pour la peau, l'huile de tournesol est nourrissante, adoucissante et apaisante. Elle permet d'assouplir les peaux les plus sèches en les réhydratant. Elle est également anti-oxydante en raison de la présence de vitamine E.

Remarque : l'huile de tournesol est une huile végétale obtenue à partir des graines de tournesol. Il existe deux variétés d'huile de tournesol, l'huile classique dite linoléique et essentiellement composée d'oméga-6 (acides-gras polyinsaturés) ; et l'huile de tournesol oléique plutôt riche en oméga-9 (acides-gras monoinsaturés) et beaucoup plus stable. La forme linoléique aurait pu être utilisée pour la fabrication de l'huile de massage d'Aromacomtois mais il n'était pas possible de s'en procurer dans les alentours, et la société a fait le choix de sélectionner des produits les plus locaux possibles.

3.3.3.3.3.2. Recommandations d'utilisation

Il est recommandé d'utiliser cette huile de massage à base d'HE de sapin sur une peau saine et d'éviter tout contact avec les muqueuses et les yeux. Cette huile est uniquement conçue pour un usage externe et ne doit pas être avalée.
Il est conseillé de tenir le produit hors de la portée des enfants. Pour assurer sa stabilité, l'huile de massage devra être conservée à l'abri de la lumière et de la chaleur.

3.3.3.3.3.3. Établissement du DIP

Afin d'être mise sur le marché, l'huile de massage produite par Aromacomtois fait l'objet d'un DIP. Ce DIP est composé de plusieurs parties et doit être rédigé et actualisé par Aromacomtois avec des informations pertinentes et recueillies au fur et à mesure de la vie du produit. Les différentes parties de ce dossier sont les suivantes :

- **1ÈRE PARTIE - DESCRIPTION DU PRODUIT COSMÉTIQUE**

  Cette partie doit inclure la formule qualitative et quantitative du produit, son nom exact, les noms de code, d'identification ou de formule, permettant de l'identifier sans ambigüité…

  Huile de massage à l'huile essentielle de sapin blanc du Jura et à l'huile végétale de tournesol oléique. Ce produit a été notifié au CPNP sous la référence 2764330.

- **2ÈME PARTIE - RAPPORT SUR LA SÉCURITÉ DU PRODUIT COSMÉTIQUE**

  PARTIE A - Information sur la sécurité du produit cosmétique

  Cette partie collecte les données permettant de prouver la sécurité du produit sur la santé humaine.

  1. **Formule qualitative & quantitative du produit**

     Chaque matière première doit être décomposée et chaque substance présente doit être mentionnée, identifiée et quantifiée avec des pourcentages.

HV de tournesol oléique	*Helianthus annuus oil*	93,45%
HE de sapin blanc	*Abies alba essential oil*	6,55%

     Les allergènes sont également indiqués.

     Citronellol - Limonène - Linalol

2. Caractéristiques physico-chimiques et données de stabilité du produit cosmétique

Les caractéristiques de chaque substance, de chaque matière première et du produit cosmétique doivent être fournies.

Les données de stabilité du produit cosmétique dans des conditions de stockage raisonnables doivent également être mentionnées.

Fiche technique : huile de massage à l'HE de sapin blanc du Jura

- ***Description du produit***
  Aspect : liquide
  Couleur : incolore à jaune pâle
  Odeur : douce, chaude, boisée, balsamique
  Emballage : flacon en verre avec spray
- ***Composition du produit***
  L'huile de massage est obtenue par simple mélange de 93,45% d'HV de tournesol oléique et 6,55% d'HE de sapin blanc.
- ***Caractéristiques physico-chimiques du produit***
  Acides gras totaux : 93,45%
  Eau et volatils : 6,55%
- ***Nomenclature INCI***
  Helianthus anuus oil ; Abies alba essential oil ; limonene ; linalool ; citronnellol

3. Qualité microbiologique

Les spécifications microbiologiques du produit cosmétique sont indiquées.

Ces informations sont essentielles car elles permettent de démontrer l'efficacité du système de conservation.

Il est reconnu dans le cas de l'huile de massage à l'HE de sapin blanc une absence de risque de développement microbien compte tenu du caractère antibactérien et antifongique de l'HE.

4. Impureté / traces / information concernant le matériau d'emballage

Ces données permettent d'évaluer si le produit cosmétique contient des substances qui ont été involontairement ajoutées et qui pourraient avoir une incidence sur sa sécurité. Une trace est une petite quantité de substance interdite retrouvée non intentionnellement dans le produit cosmétique et qui peut provenir des impuretés issues des ingrédients, du processus de fabrication, du stockage mais également de la migration de l'emballage. En cas de présence de trace, l'évaluateur doit justifier que cette présence est inévitable et que le produit reste sûr pour la santé humaine.

Concernant l'huile de massage d'Aromacomtois, il n'est fait aucune mention de la présence de substance à l'état de traces ou d'impuretés non conformes à la législation en vigueur dans les matières premières. Aucune étape du processus de fabrication du produit ne comporte de risque quant à l'incorporation de substances contaminantes dès lors que la procédure et les BPF sont respectées. Le cosmétique est conditionné à l'aide de dispenser de laboratoire dans des flacons en verres teintés, avec spray.

5. Utilisation normale et raisonnablement prévisible

La description des conditions d'utilisation est essentielle pour permettre l'évaluation de l'exposition au produit cosmétique.

Présentation du cosmétique : flacon en verre teinté avec spray.
Fonction : huile de massage tonique.
Mode d'emploi : massage prolongé sur la peau, en évitant les yeux et les muqueuses.
Précautions d'emploi / restriction d'usage : ce produit est interdit chez l'enfant de moins de 7 ans, chez la femme enceinte et allaitante. Ne pas appliquer dans les yeux ni les muqueuses. Ne pas avaler.

6. Exposition au produit cosmétique

Les données d'exposition sont surtout les suivantes : type de produit, les sites d'application, la quantité de produit appliquée, la durée et la fréquence d'utilisation, les voies d'exposition normales et les populations visées…

Population visée et / ou exposée ..... Adultes, enfants de plus de 7 ans
Type de peau ..... Tous types
Zones d'application..... Corps sauf muqueuses et yeux
Surface d'application ..... 17 500 cm²
Méthode d'application..... Main
Quantité par application ..... 1 g
Durée et fréquence d'utilisation..... 1,5 fois par jour
Rinçage ou non ..... non rincé
Voies d'exposition normales..... Voie cutanée
Exposition locale unitaire (g / dm² ou g / kg) ..... 0,00857 g/dm²/j
Exposition secondaire ..... Muqueuses
Quantité maximale absorbée ..... 0,00857 g/dm²/j
Présence de nanomatériaux ..... Non

7. Exposition aux substances

Le calcul de l'exposition aux substances concerne chaque substance retrouvée dans le produit cosmétique.

La seule substance concernée est l'HE de sapin blanc → Exposition : 0,00164 g / kg / jour

8. Profil toxicologique des substances

Le profil toxicologique de chaque substance est essentiel pour évaluer la sécurité du produit.

9. Effets indésirables et effets indésirables graves

Toutes les données de cosmétovigilance doivent être fournies.

L'huile de massage est mise sur le marché pour la première fois. À notre connaissance, aucun effet indésirable imputable à des cosmétiques similaires n'a été rapporté.

10. Autres informations sur le produit cosmétique

Toute autre information pertinente est indiquée dans cette partie.

PARTIE B - Évaluation de la sécurité du produit cosmétique

Cette partie contient l'évaluation effective de la sécurité du produit.

1. Conclusions de l'évaluation

L'utilisation de l'huile de massage à l'HE de sapin blanc ne présente pas de limite d'utilisation dans les conditions décrites.

2. Avertissements et instructions d'utilisation figurant sur l'étiquette (Figure 65).

L'huile de massage est interdite chez l'enfant de moins de 7 ans, chez la femme enceinte et allaitante. Elle ne doit pas être appliquée dans les yeux ni sur les muqueuses et ne doit pas être avalée.

Figure 65. Mentions sur l'étiquette de l'huile de massage

3. Raisonnement

Le responsable de l'évaluation de la sécurité du produit cosmétique doit veiller à disposer de toutes les informations dont il a besoin et vérifier la pertinence de ces données. Le raisonnement scientifique doit aboutir à la conclusion de l'évaluation indiquée. La sécurité du produit cosmétique doit être réévaluée régulièrement et actualisée lorsque de nouvelles données sont disponibles.

4. Références de la personne chargée de l'évaluation et approbation de la partie B

Cette partie doit contenir le nom et l'adresse de la personne chargée de l'évaluation de la sécurité, la preuve de sa qualification ainsi que sa signature.

- **3ÈME PARTIE - MÉTHODE DE FABRICATION ET DÉCLARATION DE CONFORMITÉ AUX BONNES PRATIQUES DE FABRICATION**
  Cette partie mentionne les conditions de fabrication, de conditionnement et de contrôle conformes aux BPF ainsi que la durée de conservation du produit et la méthode utilisée pour la déterminer.

- **4ÈME PARTIE - PREUVES DE L'EFFET REVENDIQUÉ**
  Lorsque la nature ou l'effet du produit le justifie (test qui prouve les propriétés du produit). Toute revendication ou allégation est étayée et justifiée.

- **5ÈME PARTIE - DONNÉES RELATIVES AUX EXPÉRIMENTATIONS ANIMALES**
  Réalisées par le fabricant, ses agents ou fournisseurs et relatives au développement ou à l'évaluation de la sécurité du produit cosmétique ou de ses ingrédients, y compris toute expérimentation animale réalisée pour satisfaire aux exigences législatives ou réglementaires de pays tiers ou effectuée au titre d'une autre législation ou réglementation…

3.3.3.3.3.4. Cosmétovigilance

La cosmétovigilance s'applique pour l'ensemble des produits cosmétiques, après leur mise sur le marché. Elle s'appuie sur la déclaration des effets indésirables et le recueil de toutes les informations correspondantes ainsi que sur le signalement des risques et des mesures prises, dans un but de prévention. Les données ainsi obtenues permettent d'actualiser les informations contenues dans le DIP.

3.3.3.3.4. D'autres huiles de massage réalisables…

D'autres huiles de massage à base d'HE de conifères des montagnes du Jura pourraient être produites et mises sur le marché.
Par exemple, nous pourrions produire une huile de massage réservée à la « récupération » du sportif. Ce processus qui permet de passer d'un état d'effort à un état de repos, a pour objectif de récupérer la séance précédente tout en préparant la

suivante. Une bonne récupération permet de limiter l'apparition de certaines douleurs après l'effort, à type de courbature, de crampe ou d'inflammation des articulations. L'utilisation des HE peut faciliter ce processus (91).

De nombreux mélanges sont possibles, en voici un exemple :

HE de **sapin blanc** (*Abies alba*) : effet **anti-inflammatoire**

+ HE de **lavandin** (*Lavandula hybrida*) : effet **décontracturant**
+ HE de **menthe poivrée** (*Mentha piperita*) : effet **antalgique** + effet froid
+ HE de **basilic** (*Ocimum basilicum*) : effet **antispasmodique**
+ HV d'**arnica** *Arnica montana* : effet **anti-inflammatoire** et **anti-ecchymose**

Cette HV permet d'apaiser les douleurs d'origine musculaire. Elle peut être utilisée pour soulager les courbatures d'origine musculaire après l'effort physique.

Un tel massage aromatique au niveau des jambes va permettre d'obtenir des effets antalgique et anti-inflammatoire tout en permettant la restauration de la fonction circulatoire.

CONCLUSION

De nos jours, un grand nombre d'entre nous fait le choix d'utiliser l'aromathérapie pour se soigner de façon naturelle. Cette utilisation des HE doit être bien réfléchie et impose de la rigueur et des précautions afin d'éviter l'apparition d'événements indésirables. En effet, bien que d'origine naturelle, les HE contiennent des molécules actives qui peuvent être plus ou moins toxiques. Le pharmacien d'officine a tout son rôle à jouer lors de la délivrance d'une HE et des conseils qui y sont associés.

Actuellement les HE de conifères sont peu connues et peu étudiées. Le projet d'Aromacomtois était de faire connaître ces HE sous différentes formes : HE pures, confiseries, parfum d'ambiance et produits cosmétiques.
Ce travail a permis d'exploiter les HE issues d'aiguilles de quelques conifères du massif Jurassien et de comprendre, grâce à l'analyse de leur composition biochimique, leurs potentiels domaines d'utilisation et précautions d'emploi. En plus de leur odeur naturelle intéressante, les HE de sapin blanc, d'épicéa commun, de pin sylvestre et de sapin de Douglas seraient anti-infectieuses, décongestionnantes respiratoires, tonifiantes, stimulantes et également antalgiques. C'est la composition moléculaire de ces HE qui permet d'expliquer en grande partie ces propriétés pharmacologiques.

Cependant encore quelques questions demeurent toujours sans réponses quant à l'utilisation de ces HE du massif Jurassien. De nouvelles analyses s'avèrent nécessaires pour comprendre complètement leurs mécanismes d'action et leurs propriétés biologiques notamment en ce qui concerne leurs propriétés anti-infectieuses. Ces recherches méritent d'être approfondies de sorte à valoriser davantage l'utilisation de ces HE locales et de qualité.

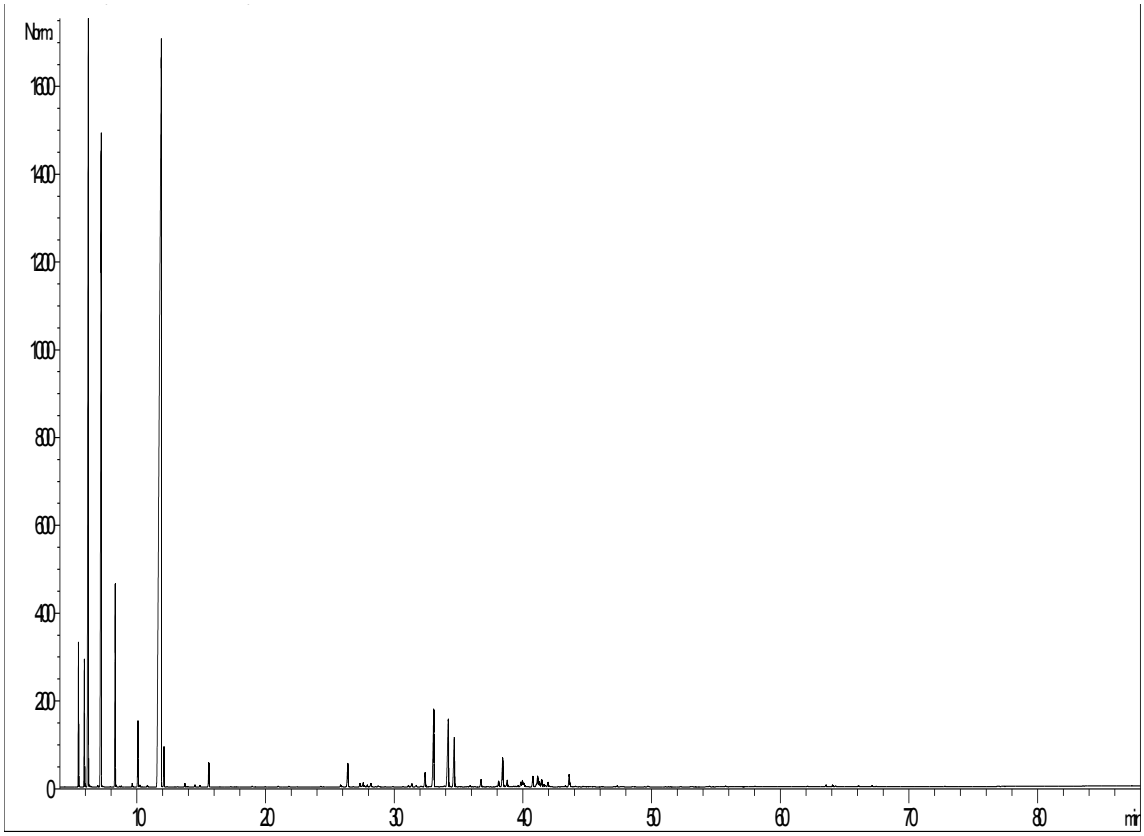
ANNEXES

Annexe n° 1

CPG Sapin blanc – Analyse Décembre 2017

HE Sapin blanc *Abies alba*
N° de lot : SB
Origine : Jura
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 12/12/2017

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 5 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	3,9	ACETONE	0,06		
2	5,5	SANTENE	1,66		
3	5,9	TRICYCLENE	1,85		
4	6,2	**alpha-PINENE**	**18,38**		
5	6,3	alpha-THUYENE	0,01		
6	6,4	TOLUENE	0,01		
7	7,0	alpha-FENCHENE	0,01		
8	7,2	**CAMPHENE**	**13,72**		
9	8,3	beta-PINENE	**3,30**		
10	8,6	SABINENE	0,01		
11	8,9	PINADIENE	0,01		
12	9,6	delta3-CARENE	0,06		
13	10,1	beta-MYRCENE	1,20		
14	10,2	alpha-PHELLANDRENE	0,03		
15	10,8	alpha-TERPINENE	0,03		
16	11,9	**LIMONENE**	**46,17**		46,17
17	12,0	alpha-PHELLANDRENE	0,63		
18	12,3	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
19	12,9	2-PENTYL-FURANE	0,01		
20	13,1	Cis-beta-OCIMENE	0,01		
21	13,7	gamma-TERPINENE	0,06		
22	13,9	Trans-beta-OCIMENE	0,01		
23	14,5	p-CYMENE	0,03		
24	15,5	TERPINOLENE	0,48		
25	18,9	ACETATE DE cis-3-HEXENYLE	0,01		
26	20,9	3-HEXEN-1-OL	0,02		
27	21,8	NONANAL	0,01		
28	24,3	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,01		
29	25,8	alpha-CUBEBENE	0,05		
30	26,0	SESQUITERPENE	0,01		
31	26,3	alpha-LONGIPINENE	0,65		
32	27,3	alpha-CAMPHOLENAL	0,02		
33	27,5	YLANGENE	0,09		
34	27,6	ISOLONGIFOLENE	0,11		
35	27,9	CYCLOSATIVENE	0,04		
36	28,2	alpha-COPAENE	0,10		
37	28,8	LONGICYCLENE	0,03		
38	29,9	SESQUITERPENE	0,01		
39	31,1	LINALOL	0,03		0,03
40	31,3	SESQUITERPENE	0,09		
41	31,7	ACETATE DE LINALYLE	0,04		
42	32,1	SESQUITERPENE	0,03		
43	32,4	LONGIFOLENE	0,38		
44	32,8	SESQUITERPENE	0,01		
45	33,1	**ACETATE DE BORNYLE**	**2,40**		
46	33,6	alpha-trans-BERGAMOTENE	0,01		
47	33,9	HYDRATE DE CAMPHENE	0,04		
48	34,2	beta-CARYOPHYLLENE	2,30		
49	34,6	SESQUITERPENE	1,50		

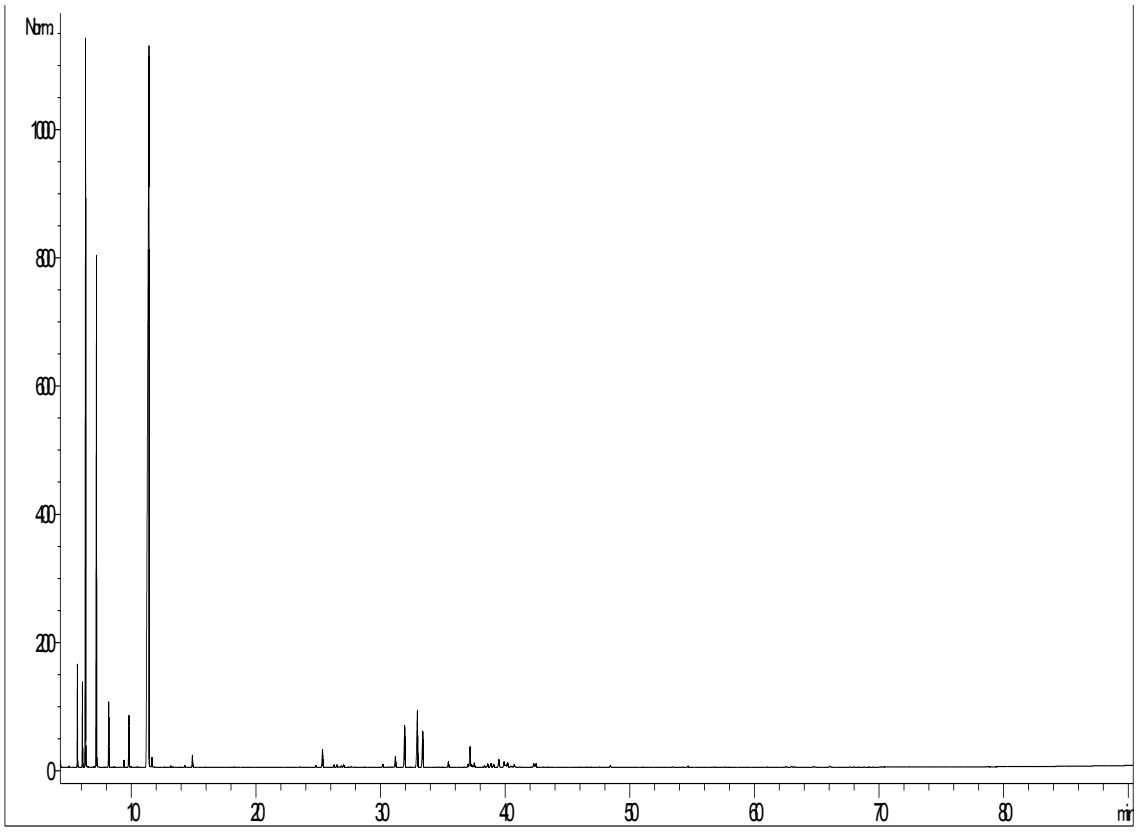
50	35,8	SESQUITERPENE	0,03		
51	36,3	SESQUITERPENE	0,01		
52	36,7	alpha-HIMACHALENE	0,20		
53	38,0	SESQUITERPENE	0,02		
54	38,1	ACETATE DE CITRONELLYLE	0,15		
55	38,4	alpha-HUMULENE	0,88		
56	38,7	gamma-SELINENE	0,03		
57	38,8	E-beta-FARNESENE	0,19		
58	39,2	ACETATE TERPENIQUE	0,02		
59	39,5	SESQUITERPENE	0,02		
60	39,6	gamma-MUUROLENE	0,04		
61	39,8	alpha-TERPINEOL	0,13		
62	40,0	ACETATE DE TERPENYLE	0,17		
63	40,1	BORNEOL + SESQUITERPENE	0,13		
64	40,8	gamma-HIMACHALENE	0,29		
65	41,1	SESQUITERPENE	0,06		
66	41,2	beta-HIMACHALENE	0,31		
67	41,3	beta-SELINENE	0,17		
68	41,5	HIMACHALENE ISOMERE	0,21		
69	41,6	alpha-SELINENE	0,07		
70	41,7	alpha-MUUROLENE	0,04		
71	41,9	beta-BISABOLENE	0,14		
72	42,2	ESTER ALIPHATIQUE	0,02		
73	43,3	alpha-FARNESENE	0,03		
74	43,5	ACETATE DE GERANYLE + delta-CADINENE	0,30		
75	43,6	gamma-CADINENE	0,08		
76	43,7	SALICYLATE DE MATHYLE	0,02		
77	44,1	CITRONELLOL	0,01		0,01
78	44,6	alpha-BISABOLENE	0,01		
79	47,0	ESTER ALIPHATIQUE	0,01		
80	47,3	Trans-ANETHOL	0,03		
81	48,5	p-CYMENE-8-OL	0,01		
82	49,7	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0,02		
83	52,2	alpha-CALACORENE	0,01		
84	54,2	CUBEBOL	0,01		
85	54,5	SESQUITERPENOL	0,02		
86	55,2	OXYDE D'ISOCARYOPHYLLENE	0,01		
87	55,7	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0,03		
88	58,0	SESQUITERPENOL	0,02		
89	58,6	EPOXY-6,7-HUMULENE	0,01		
90	59,0	NEROLIDOL	0,01		
91	62,1	CUBENOL	0,02		
92	63,5	SESQUITERPENOL	0,05		
93	64,1	SESQUITERPENOL	0,04		
94	64,3	SESQUITERPENOL	0,03		
95	64,9	SESQUITERPENOL	0,01		
96	65,3	T-CADINOL	0,01		
97	66,1	CEMBRENE	0,04		
98	67,1	SESQUITERPENOL	0,03		
99	67,4	DITERPENE Mw=272	0,01		
		TOTAL	**99,95**		**46,21**

Annexe n° 2

CPG Sapin blanc – Analyse Février 2018

HE Sapin blanc *Abies alba*
N° de lot : -
Origine : Jura
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 21/02/2018

. CPG 6890 / SM 5973 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 2 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	4,3	ACETONE	0,09		
2	5,0	ETHANOL	0,03		
3	5,6	SANTENE	1,76		
4	6,1	TRICYCLENE	1,66		
5	6,3	**alpha-PINENE**	**16,33**		
6	6,4	alpha-THUYENE	0,02		
7	6,5	TOLUENE	0,03		
8	7,0	alpha-FENCHENE	0,02		
9	7,2	**CAMPHENE**	**12,43**		
10	8,2	beta-PINENE	1,49		
11	8,5	SABINENE	0,01		
12	8,6	PINADIENE	0,02		
13	9,4	delta3-CARENE	0,18		
14	9,8	beta-MYRCENE	1,34		
15	9,9	alpha-PHELLANDRENE	0,02		
16	10,5	alpha-TERPINENE	0,02		
17	11,4	**LIMONENE**	**51,19**		51,19
18	11,6	alpha-PHELLANDRENE	0,29		
19	11,9	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
20	12,6	Cis-beta-OCIMENE	0,01		
21	13,2	gamma-TERPINENE	0,04		
22	13,3	Trans-beta-OCIMENE	0,01		
23	13,9	2-HEPTANOL, ACETATE	0,01		
24	14,3	p-CYMENE	0,05		
25	14,9	TERPINOLENE	0,37		
26	18,2	TRIMETHYL ANISALDEHYDE	0,02		
27	23,5	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,02		
28	24,8	alpha-CUBEBENE	0,06		
29	25,3	alpha-LONGIPINENE	0,71		
30	26,2	alpha-CAMPHOLENAL	0,03		
31	26,3	YLANGENE	0,11		
32	26,4	ISOLONGIFOLENE	0,10		
33	26,8	alpha-COPAENE	0,07		
34	27,0	LONGICYCLENE	0,11		
35	27,6	SESQUITERPENE	0,03		
36	27,9	SESQUITERPENE	0,02		
37	28,7	alpha-GURJUNENE	0,02		
38	30,1	LINALOL	0,03		0,03
39	30,2	SESQUITERPENE	0,10		
40	30,6	ACETATE DE LINALYLE	0,03		
41	30,9	SESQUITERPENE	0,03		
42	31,2	LONGIFOLENE	0,45		
43	31,6	SESQUITERPENE	0,02		
44	31,9	**ACETATE DE BORNYLE**	**1,75**		
45	32,4	alpha-trans-BERGAMOTENE	0,02		
46	32,7	HYDRATE DE CAMPHENE	0,02		
47	32,9	**beta-CARYOPHYLLENE**	**2,64**		
48	33,2	TERPINENE-4-OL	0,04		
49	33,3	SESQUITERPENE	1,53		

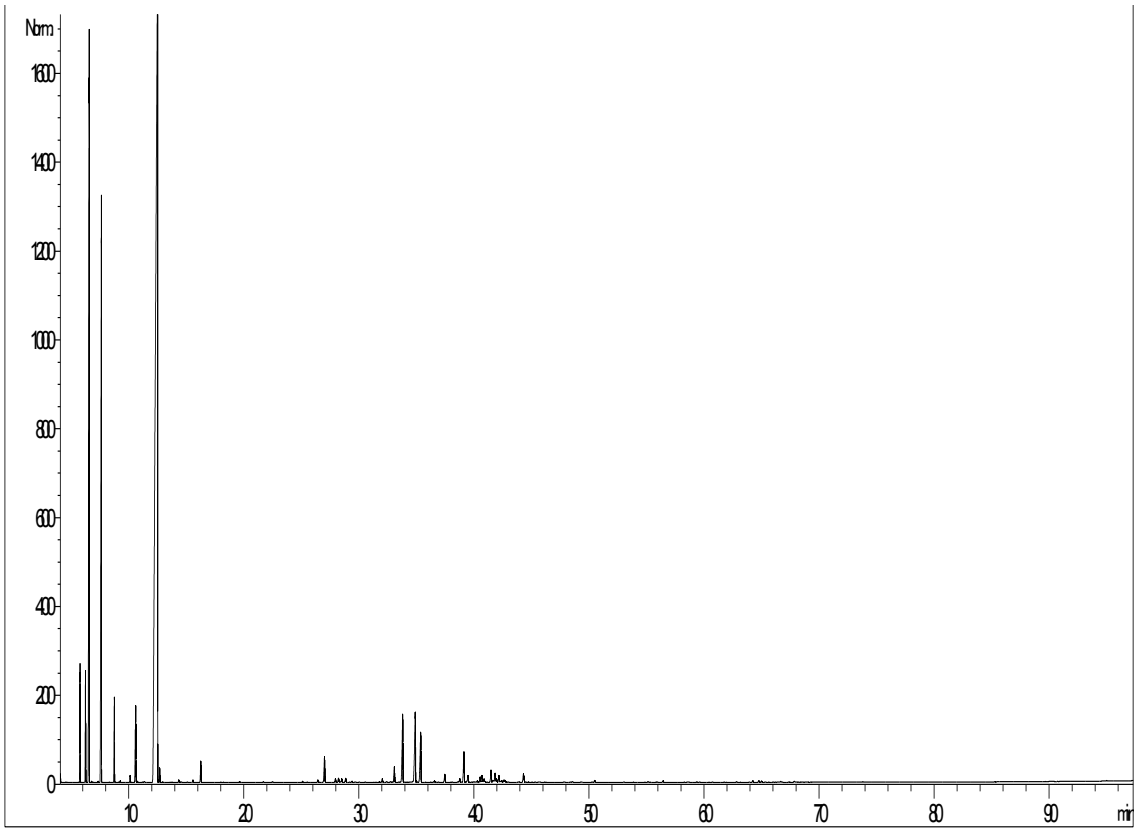
50	34,6	SESQUITERPENE	0,03		
51	34,9	SESQUITERPENE	0,02		
52	35,4	alpha-HIMACHALENE	0,23		
53	36,6	SESQUITERPENE	0,02		
54	37,0	ACETATE DE CITRONELLYLE	0,13		
55	37,2	alpha-HUMULENE	0,90		
56	37,3	gamma-SELINENE	0,11		
57	37,5	E-beta-FARNESENE	0,20		
58	38,2	ACETATE TERPENIQUE	0,02		
59	38,3	gamma-MUUROLENE	0,07		
60	38,5	HIMACHALENE ISOMERE	0,16		
61	38,8	alpha-TERPINEOL	0,19		
62	39,1	BORNEOL	0,15		
63	39,5	beta-HIMACHALENE	0,37		
64	39,9	10,11-HIMACHALA-3,5-DIENE	0,31		
65	40,0	VALENCENE	0,10		
66	40,2	alpha-ALASKENE	0,26		
67	40,4	alpha-SELINENE	0,07		
68	40,5	alpha-MUUROLENE	0,04		
69	40,7	beta-BISABOLENE	0,16		
70	41,2	ESTER ALIPHATIQUE	0,03		
71	42,1	alpha-FARNESENE	0,02		
72	42,3	delta-CADINENE	0,17		
73	42,4	gamma-CADINENE	0,06		
74	42,5	ACETATE DE GERANYLE	0,15		
75	43,0	CITRONELLOL	0,02		0,02
76	43,4	alpha-BISABOLENE	0,02		
77	46,0	ESTER ALIPHATIQUE	0,02		
78	46,8	Trans-ANETHOL	0,02		
79	47,5	p-CYMENE-8-OL	0,02		
80	48,4	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0,07		
81	51,0	alpha-CALACORENE	0,02		
82	53,4	CUBEBOL	0,03		
83	54,2	OXYDE D'ISOCARYOPHYLLENE	0,02		
84	54,6	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0,06		
85	56,8	SESQUITERPENOL	0,02		
86	57,6	EPOXY-6,7-HUMULENE	0,02		
87	58,0	NEROLIDOL	0,02		
88	61,0	CUBENOL	0,02		
89	62,5	COMPOSE AROMATIQUE	0,04		
90	63,0	COPAENOL ISOMERE	0,04		
91	63,2	SESQUITERPENOL	0,03		
92	64,7	CEMBRENE	0,04		
93	67,1	HIMACHALOL ISOMERE	0,05		
94	72,4	COMPOSE AROMATIQUE	0,02		
95	93,0	Ar-HIMACHALEN-2-OL	0,02		
		TOTAL	**99,98**		**51,24**

Annexe n° 3

CPG Sapin blanc – Analyse Mai 2018

HE Sapin blanc *Abies alba*
N° de lot : -
Origine : Jura
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 08/05/2018

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 2 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	4,1	ACETONE	0,06		
2	5,7	SANTENE	1,27		
3	6,2	TRICYCLENE	1,48		
4	6,5	**alpha-PINENE**	**13,18**		
5	6,7	alpha-THUYENE	0,01		
6	6,8	TOLUENE	0,01		
7	7,3	alpha-FENCHENE	0,02		
8	7,6	**CAMPHENE**	**11,43**		
9	8,7	beta-PINENE	1,25		
10	9,1	SABINENE	0,01		
11	9,3	PINADIENE	0,02		
12	10,1	delta3-CARENE	0,12		
13	10,5	beta-MYRCENE	1,46		
14	10,7	alpha-PHELLANDRENE	0,02		
15	11,3	alpha-TERPINENE	0,02		
16	12,5	**LIMONENE**	**57,70**		57,70
17	12,6	1,8-CINEOLE	0,03		
18	12,7	alpha-PHELLANDRENE	0,19		
19	12,9	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
20	13,7	Cis-beta-OCIMENE	0,01		
21	14,3	gamma-TERPINENE	0,04		
22	14,4	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
23	14,5	Trans-beta-OCIMENE	0,01		
24	15,0	2-HEPTANOL, ACETATE	0,01		
25	15,5	p-CYMENE	0,04		
26	16,2	TERPINOLENE	0,39		
27	19,6	CAMPHOLENE ALDEHYDE ISOMERE	0,02		
28	21,6	3-HEXEN-1-OL	0,02		
29	22,4	NONANAL	0,02		
30	25,0	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,02		
31	25,5	LIMONENE Cis-OXIDE	0,01		
32	26,4	alpha-CUBEBENE	0,05		
33	27,0	alpha-LONGIPINENE	0,64		
34	27,9	alpha-CAMPHOLENAL	0,09		
35	28,2	YLANGENE	0,12		
36	28,5	alpha-COPAENE	0,09		
37	28,8	LONGICYCLENE	0,10		
38	29,1	SESQUITERPENE	0,01		
39	29,3	SESQUITERPENE	0,03		
40	29,6	CAMPHRE	0,02		
41	30,5	SESQUITERPENE	0,01		
42	31,7	LINALOL	0,02		0,02
43	32,0	SESQUITERPENE	0,09		
44	32,4	ACETATE DE LINALYLE	0,02		
45	32,7	SESQUITERPENE	0,03		
46	33,0	LONGIFOLENE	0,40		
47	33,4	SESQUITERPENE	0,01		
48	33,7	**ACETATE DE BORNYLE**	**1,87**		
49	34,6	SESQUITERPENE	0,02		

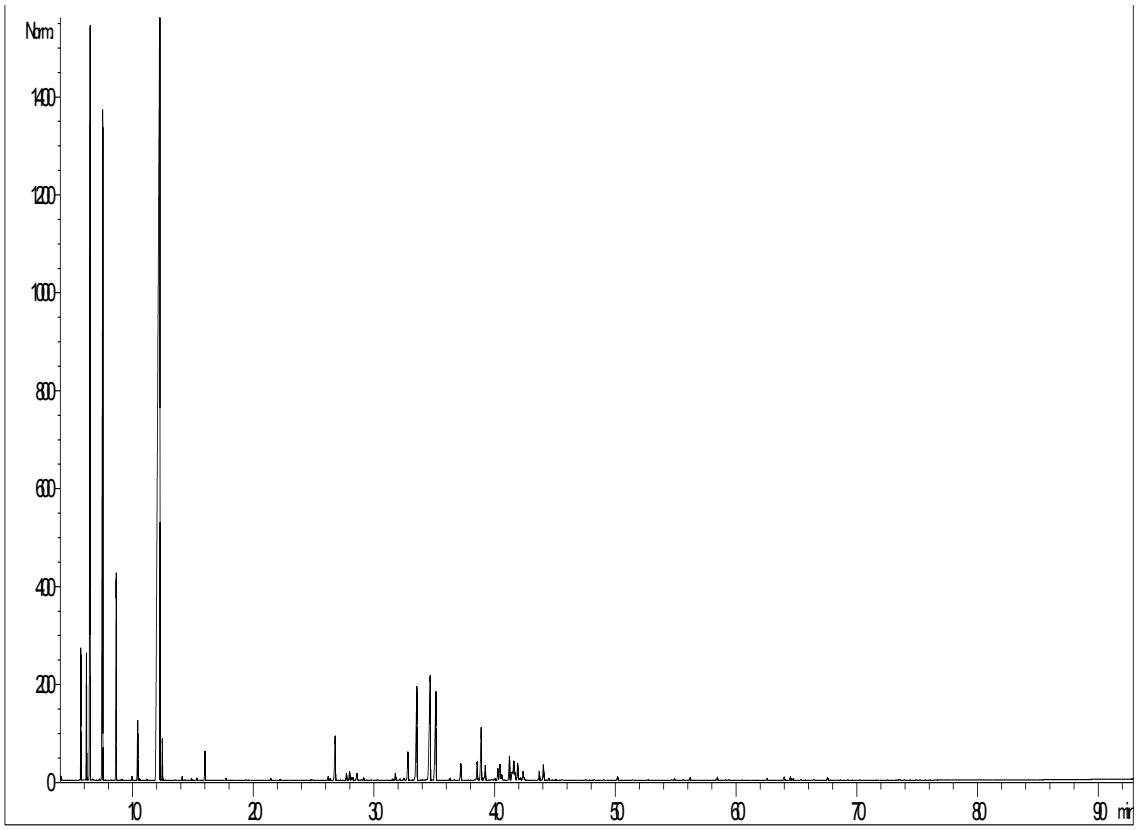
50	34,8	**beta-CARYOPHYLLENE**	**2,22**		
51	35,0	TERPINENE-4-OL	0,01		
52	35,3	SESQUITERPENE	1,47		
53	36,5	SESQUITERPENE	0,04		
54	36,9	SESQUITERPENE	0,01		
55	37,5	alpha-HIMACHALENE	0,21		
56	38,1	Trans-PINOCARVEOL	0,01		
57	38,6	ZONARENE	0,02		
58	38,7	ACETATE DE CITRONELLYLE	0,09		
59	38,9	SESQUITERPENE	0,01		
60	39,1	alpha-HUMULENE	0,83		
61	39,3	E-beta-FARNESENE	0,03		
62	39,5	SESQUITERPENE	0,17		
63	40,0	SESQUITERPENE	0,02		
64	40,3	ACETATE TERPENIQUE	0,05		
65	40,5	HIMACHALENE ISOMERE	0,13		
66	40,7	alpha-TERPINEOL	0,22		
67	40,8	BORNEOL	0,08		
68	40,9	SESQUITERPENE	0,02		
69	41,1	DIMETHYL BENZOFURANE	0,01		
70	41,4	beta-HIMACHALENE	0,31		
71	41,6	DODECANAL	0,08		
72	41,8	10,11-HIMACHALA-3,5-DIENE	0,25		
73	41,9	VALENCENE	0,10		
74	42,1	alpha-ALASKENE	0,18		
75	42,3	alpha-SELINENE	0,03		
76	42,4	alpha-MUUROLENE	0,04		
77	42,6	beta-BISABOLENE	0,06		
78	42,7	ESTER ALIPHATIQUE	0,05		
79	43,9	alpha-FARNESENE	0,02		
80	44,2	delta-CADINENE	0,16		
81	44,3	ACETATE DE GERANYLE	0,12		
82	44,7	CITRONELLOL	0,01		0,01
83	45,3	alpha-BISABOLENE	0,01		
84	48,4	CALAMENENE	0,01		
85	48,5	Trans-CARVEOL	0,03		
86	50,2	Cis-CARVEOL	0,01		
87	50,4	EUDESMATRIENE ISOMERE	0,05		
88	53,0	alpha-CALACORENE	0,01		
89	55,1	CUBEBOL	0,02		
90	56,4	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0,04		
91	58,6	SESQUITERPENOL	0,01		
92	59,3	EPOXY-6,7-HUMULENE	0,01		
93	59,6	NEROLIDOL	0,01		
94	62,8	SESQUITERPENONE	0,01		
95	64,2	SESQUITERPENOL	0,04		
96	64,7	Epi-CUBENOL	0,04		
97	65,0	CUBENOL	0,03		
98	66,6	CEMBRENE	0,03		
99	67,8	SESQUITERPENOL	0,03		
100	68,0	SESQUITERPENOL	0,01		
101	73,8	COMPOSE AROMATIQUE	0,01		
102	95,0	Ar-HIMACHALEN-2-OL	0,01		
		TOTAL	**99,99**		**57,73**

Annexe n° 4

CPG Sapin blanc – Analyse Juin 2018

HE Sapin blanc *Abies alba*
N° de lot : 06/2022
Origine : Jura
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 26/06/2018

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 2 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	4,1	ACETONE	0,03		
2	5,7	SANTENE	1,37		
3	6,2	TRICYCLENE	1,59		
4	6,5	**alpha-PINENE**	**11,94**		
5	6,6	TOLUENE	0,01		
6	7,2	alpha-FENCHENE	0,02		
7	7,5	**CAMPHENE**	**12,82**		
8	8,6	**beta-PINENE**	**3,07**		
9	9,0	SABINENE	0,01		
10	9,1	PINADIENE	0,02		
11	10,0	delta3-CARENE	0,06		
12	10,4	beta-MYRCENE	1,00		
13	10,5	alpha-PHELLANDRENE	0,03		
14	11,2	alpha-TERPINENE	0,03		
15	12,2	**LIMONENE**	**46,76**		46,76
16	12,5	alpha-PHELLANDRENE	0,55		
17	12,7	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
18	13,5	Cis-beta-OCIMENE	0,01		
19	14,1	gamma-TERPINENE	0,05		
20	14,2	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
21	14,3	Trans-beta-OCIMENE	0,01		
22	14,9	2-HEPTANOL, ACETATE	0,03		
23	15,3	p-CYMENE	0,04		
24	16,0	TERPINOLENE	0,50		
25	17,7	ACETATE DE 3-HEXEN-1-OL	0,04		
26	19,3	CAMPHOLENE ALDEHYDE ISOMERE	0,01		
27	19,5	1-HEXANOL	0,01		
28	21,4	3-HEXEN-1-OL	0,04		
29	22,2	NONANAL	0,03		
30	24,7	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,02		
31	26,2	alpha-CUBEBENE	0,09		
32	26,3	ACETATE DE 2-NONYLE	0,05		
33	26,8	alpha-LONGIPINENE	1,13		
34	27,7	YLANGENE	0,15		
35	27,9	HIMACHALADIENE ISOMERE	0,21		
36	28,1	ESTER ALIPHATIQUE	0,06		
37	28,2	alpha-COPAENE	0,07		
38	28,5	LONGICYCLENE	0,21		
39	28,9	SESQUITERPENE	0,03		
40	29,1	SATIVENE	0,06		
41	30,3	beta1-CUBEBENE	0,02		
42	31,5	LINALOL	0,03		0,03
43	31,8	SESQUITERPENE	0,16		
44	32,1	ACETATE DE LINALYLE	0,04		
45	32,5	SESQUITERPENE	0,05		
46	32,8	LONGIFOLENE	0,71		
47	33,2	SESQUITERPENE	0,02		
48	33,5	**ACETATE DE BORNYLE**	**2,73**		
49	34,4	SESQUITERPENE	0,03		

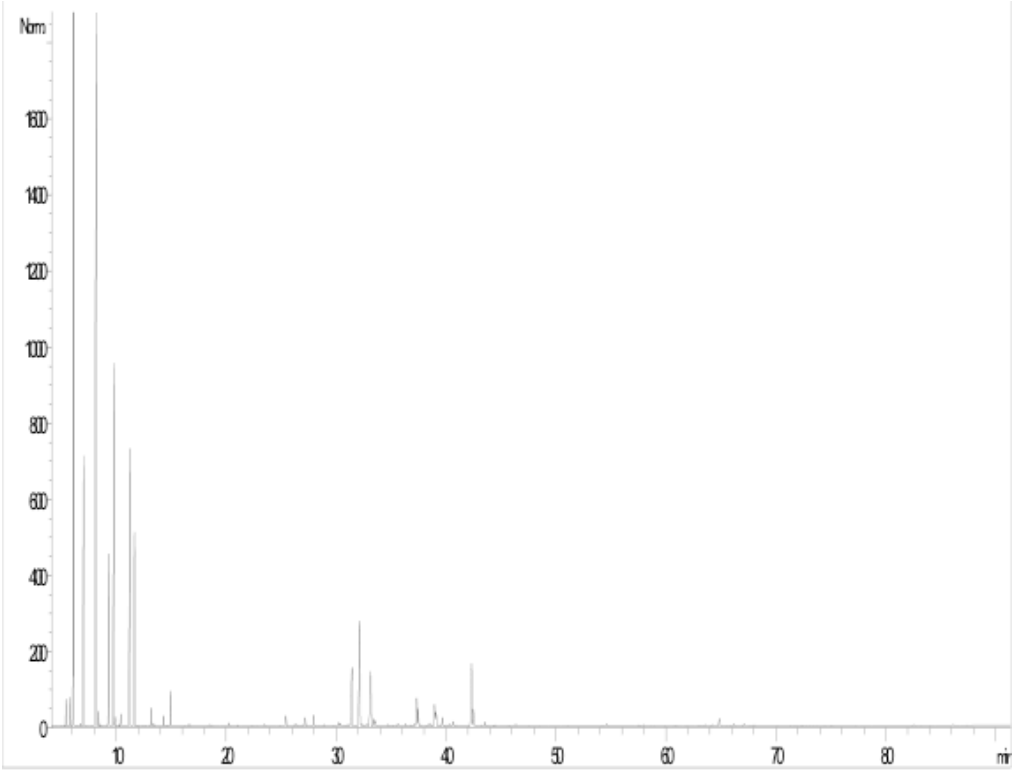
50	34,6	**beta-CARYOPHYLLENE**	**3,51**		
51	34,7	TERPINENE-4-OL	0,02		
52	35,1	**HIMACHALA-2,4-DIENE**	**2,78**		
53	36,2	SESQUITERPENE	0,05		
54	37,2	alpha-HIMACHALENE	0,41		
55	38,3	ZONARENE	0,03		
56	38,5	ACETATE DE CITRONELLYLE	0,44		
57	38,8	alpha-HUMULENE	1,40		
58	39,0	E-beta-FARNESENE	0,05		
59	39,2	SESQUITERPENE	0,36		
60	39,5	SESQUITERPENE	0,01		
61	39,6	ACETATE TERPENIQUE	0,03		
62	39,7	SESQUITERPENE	0,02		
63	39,9	SESQUITERPENE	0,02		
64	40,0	gamma-MUUROLENE	0,04		
65	40,2	HIMACHALENE ISOMERE	0,28		
66	40,4	alpha-TERPINEOL	0,45		
67	40,5	BORNEOL	0,12		
68	41,2	beta-HIMACHALENE	0,59		
69	41,4	SESQUITERPENE	0,24		
70	41,5	10,11-HIMACHALA-3,5-DIENE	0,57		
71	41,6	CADINENE ISOMERE	0,21		
72	41,8	HIMACHALADIENE ISOMERE	0,40		
73	42,0	alpha-SELINENE	0,04		
74	42,2	alpha-MUUROLENE	0,06		
75	42,3	beta-BISABOLENE	0,22		
76	42,4	SESQUITERPENE	0,07		
77	42,6	SESQUITERPENE	0,02		
78	43,6	alpha-FARNESENE	0,20		
79	43,9	delta-CADINENE	0,25		
80	44,0	ACETATE DE GERANYLE	0,17		
81	44,5	CITRONELLOL	0,04		0,04
82	44,7	SALICYLATE DE METHYLE	0,02		
83	45,0	alpha-BISABOLENE	0,02		
84	47,5	COMPOSE Mw=220	0,02		
85	48,2	CALAMENENE	0,02		
86	49,0	p-CYMENE-8-OL	0,02		
87	50,1	COMPOSE AROMATIQUE Mw=202	0,09		
88	51,4	ACETATE DE LAURYLE	0,01		
89	52,7	alpha-CALACORENE	0,02		
90	54,6	CUBEBOL	0,01		
91	54,8	beta-CALACORENE	0,04		
92	55,6	1-DODECANOL	0,02		
93	55,7	OXYDE D'ISOCARYOPHYLLENE	0,01		
94	56,2	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0,07		
95	58,4	SESQUITERPENOL	0,08		
96	59,1	EPOXY-6,7-HUMULENE	0,02		
97	59,4	NEROLIDOL	0,02		
98	60,4	SESQUITERPENOL	0,01		
99	62,5	SESQUITERPENOL	0,04		
100	63,9	SESQUITERPENOL	0,09		
101	64,4	Epi-CUBENOL	0,09		
102	64,7	CUBENOL	0,04		
103	65,3	SESQUITERPENOL	0,02		
104	66,4	CEMBRENE	0,03		
105	67,5	SESQUITERPENOL	0,07		
106	73,5	COMPOSE AROMATIQUE	0,02		
107	94,6	Ar-HIMACHALEN-2-OL	0,02		
		TOTAL	**99,99**		**46,83**

Annexe n° 5

CPG Épicéa – Analyse Octobre 2018

HE Épicéa commun *Abies picea*
N° de lot : 09/2022
Origine : -
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 05/10/2018

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.25 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.25 µm
. Programmation de température : 60 °C (5 min) – 2 °C/min → 250 °C (15 min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	3,9	ACETONE	0,13		
2	5,4	SANTENE	0,31		
3	5,8	TRICYCLENE	0,42		
4	6,0	**alpha-PINENE**	**14,17**		
5	6,1	alpha-THUYENE	0,08		
6	6,8	alpha-FENCHENE	0,04		
7	7,0	**CAMPHENE**	**4,54**		
8	8,2	beta-PINENE	**27,65**		
9	8,4	SABINENE	0,21		
10	8,5	PINADIENE	0,03		
11	9,3	**delta3-CARENE**	**3,86**		
12	9,8	**beta-MYRCENE**	**11,81**		
13	9,9	alpha-PHELLANDRENE	0,11		
14	10,0	psi-LIMONENE	0,01		
15	10,2	p-CYMENE	0,02		
16	10,4	alpha-TERPINENE	0,22		
17	11,2	**LIMONENE**	**9,67**		9,67
18	11,6	**beta-PHELLANDRENE**	**5,47**		
19	11,8	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
20	11,9	COMPOSE Mw=152	0,02		
21	12,4	2-PENTYL-FURANE	0,01		
22	12,6	Cis-beta-OCIMENE	0,02		
23	13,1	gamma-TERPINENE	0,36		
24	13,4	Trans-beta-OCIMENE	0,07		
25	14,2	p-CYMENE	0,22		
26	14,3	ACETATE D'HEXYLE	0,02		
27	14,6	ISOTERPINOLENE	0,02		
28	14,9	TERPINOLENE	0,76		
29	16,6	ACETATE DE cis-3-HEXENYLE	0,05		
30	18,5	ESTER ALIPHATIQUE	0,04		
31	20,2	3-HEXEN-1-OL	0,09		
32	21,0	FENCHONE	0,04		
33	22,3	PERILLENE	0,02		
34	23,4	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,05		
35	24,9	alpha-CUBEBENE	0,02		
36	25,4	alpha-LONGIPINENE	0,33		
37	25,5	SESQUITERPENE	0,02		
38	26,2	CYCLOSATIVENE	0,06		
39	26,3	YLANGENE	0,05		
40	26,6	SESQUITERPENE	0,02		
41	26,9	alpha-COPAENE	0,05		
42	27,1	LONGICYCLENE	0,25		
43	27,9	CAMPHRE	0,31		
44	28,0	alpha-PINOCAMPHONE	0,03		
45	28,5	beta-BOURBONENE	0,02		
46	28,8	SESQUITERPENE	0,05		
47	29,8	beta-PINOCAMPHONE	0,02		
48	30,2	SESQUITERPENE	0,09		
49	30,3	SESQUITERPENE	0,08		
50	30,8	ACETATE DE LINALYLE	0,02		
51	31,0	PINOCARVONE	0,06		
52	31,4	LONGIFOLENE	2,31		
53	32,1	**ACETATE DE BORNYLE**	**4,58**		
54	32,2	FENCHOL	0,03		
55	32,4	ACETATE D'ISOBORNYLE	0,05		
56	32,5	SESQUITERPENE	0,01		
57	32,7	beta-ELEMENE	0,05		
58	32,8	METHYL THYMOL ETHER	0,05		
59	33,1	beta-CARYOPHYLLENE	2,18		

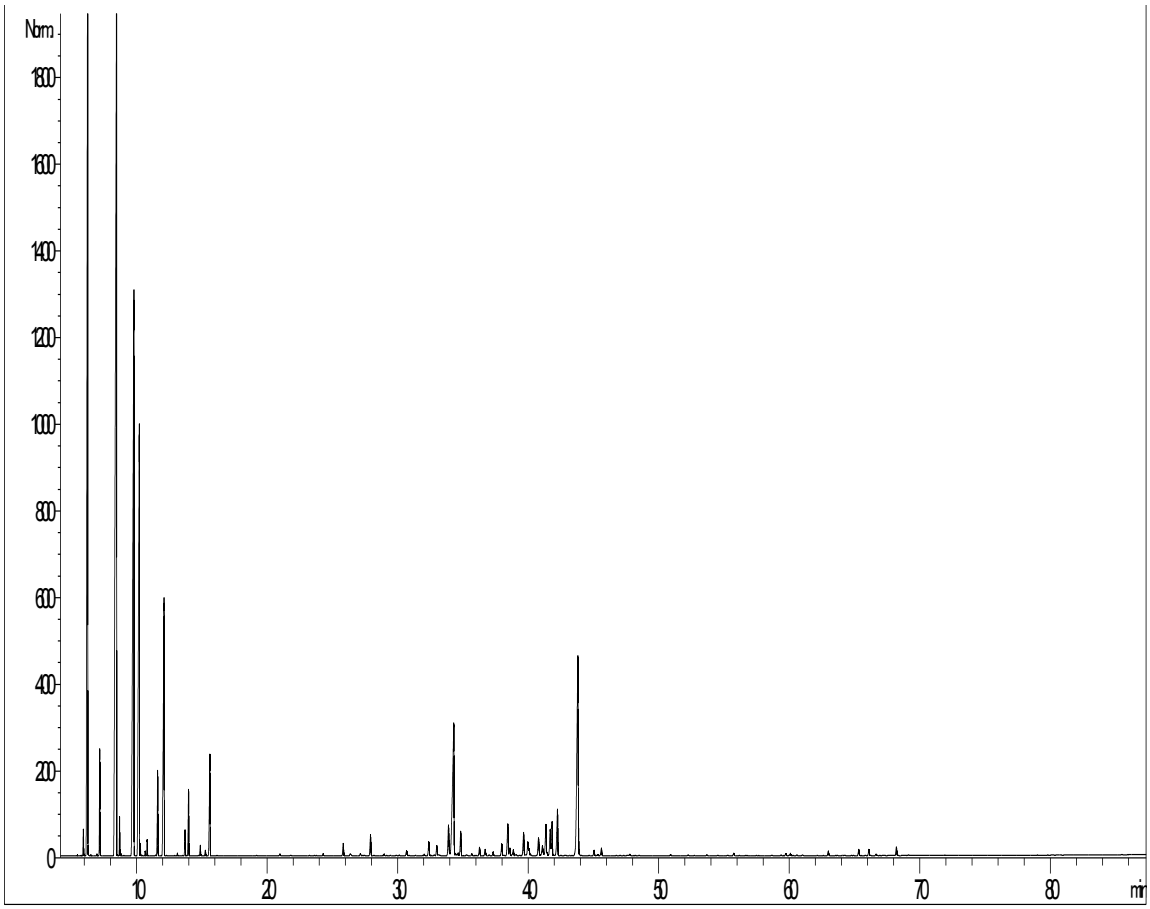
60	33,4	TERPINENE-4-OL	0,21		
61	33,5	SESQUITERPENE	0,15		
62	34,7	MYRTENAL	0,05		
63	35,1	CADINA-3,5-DIENE	0,02		
64	35,6	SESQUITERPENE	0,09		
65	36,3	Trans-PINOCARVEOL	0,06		
66	36,8	SESQUITERPENE	0,04		
67	37,1	ACETATE DE CITRONELLYLE	0,06		
68	37,3	alpha-HUMULENE	0,94		
69	37,5	E-beta-FARNESENE	0,50		
70	37,6	SESQUITERPENE	0,06		
71	38,2	ESTER TERPENIQUE	0,02		
72	38,5	gamma-MUUROLENE	0,10		
73	38,7	SESQUITERPENE	0,04		
74	38,9	ACETATE DE TERPENYLE	0,68		
75	39,0	alpha-TERPINEOL	0,34		
76	39,1	BORNEOL	0,30		
77	39,6	GERMACRENE D	0,28		
78	39,9	SESQUITERPENE	0,02		
79	40,0	SESQUITERPENE	0,03		
80	40,1	beta-SELINENE	0,04		
81	40,3	alpha-SELINENE	0,06		
82	40,5	PIPERITONE	0,04		
83	40,6	alpha-MUUROLENE	0,16		
84	40,8	beta-BISABOLENE	0,04		
85	40,9	BERGAMOTENE ISOMERE	0,05		
86	42,3	alpha-FARNESENE	2,33		
87	42,4	delta-CADINENE	0,51		
88	42,5	ACETATE DE GERANYLE + gamma-CADINENE	0,18		
89	43,0	CITRONELLOL	0,03		0,03
90	43,2	SALICYLATE DE METHYLE	0,03		
91	43,5	alpha-BISABOLENE	0,13		
92	43,8	SESQUITERPENE	0,02		
93	44,3	MYRTENOL	0,03		
94	44,4	alpha-AMORPHENE	0,03		
95	45,7	2-TRIDECANONE	0,02		
96	46,3	GERMACRENE B	0,06		
97	48,5	COMPOSE AROMATIQUE	0,01		
98	51,0	alpha-CALACORENE	0,02		
99	54,6	OXYDE D'HUMULENE	0,07		
100	57,5	EPOXY-6,7-HUMULENE	0,04		
101	57,9	NEROLIDOL	0,04		
102	59,8	SESQUITERPENOL	0,02		
103	61,9	SPATHULENOL	0,03		
104	63,1	SESQUITERPENOL	0,02		
105	63,5	SESQUITERPENOL	0,04		
106	64,2	SESQUITERPENOL	0,04		
107	64,8	CEMBRENE	0,24		
108	64,9	T-CADINOL	0,03		
109	66,2	SESQUITERPENOL	0,07		
110	67,0	alpha-MUUROLOL	0,07		
111	68,0	SESQUITERPENOL	0,03		
112	72,4	DITERPENE Mw=272	0,04		
113	77,3	COMPOSE AROMATIQUE	0,01		
114	82,3	SESQUITERPENOL	0,02		
115	82,5	SESQUITERPENOL	0,03		
116	86,1	Epi-MANOOL	0,03		
117	96,3	COMPOSE AROMATIQUE	0,05		
		TOTAL	**99,99**		**9,70**

Annexe n° 6

CPG Pin sylvestre – Analyse Décembre 2017

HE Pin sylvestre *Pinus sylvestris*
N° de lot : PS
Origine : -
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 13/12/2017

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 5 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	3,9	ACETONE	0,08		
2	5,5	SANTENE	0,01		
3	5,9	TRICYCLENE	0,32		
4	6,2	**alpha-PINENE**	**16,64**		
5	6,3	alpha-THUYENE	0,10		
6	6,9	alpha-FENCHENE	0,02		
7	7,2	CAMPHENE	1,21		
8	8,4	**beta-PINENE**	**25,31**		
9	8,7	SABINENE	0,37		
10	8,8	PINADIENE	0,02		
11	9,7	**delta3-CARENE**	**15,30**		
12	10,2	**beta-MYRCENE**	**9,08**		
13	10,3	alpha-PHELLANDRENE	0,10		
14	10,4	psy-LIMONENE	0,01		
15	10,6	o-CYMENE	0,05		
16	10,8	alpha-TERPINENE	0,18		
17	11,5	ISOSYLVESTRENE	0,01		
18	11,6	LIMONENE	1,15		1,15
19	12,1	**beta-PHELLANDRENE**	**5,17**		
20	12,3	MENTHATRIENE ISOMERE	0,01		
21	12,9	2-PENTHYL FURANE	0,01		
22	13,1	Cis-beta-OCIMENE	0,03		
23	13,8	gamma-TERPINENE	0,35		
24	14,0	Trans-beta-OCIMENE	0,92		
25	14,7	m-CYMENE	0,01		
26	14,9	p-CYMENE	0,15		
27	15,3	ISOTERPINOLENE	0,08		
28	15,7	TERPINOLENE	1,74		
29	19,2	1-HEXANOL	0,01		
30	20,9	3-HEXEN-1-OL	0,04		
31	21,8	COMPOSE MENTHATRIENIQUE	0,02		
32	23,2	PERILLENE	0,01		
33	23,6	ESTER ALIPHATIQUE	0,01		
34	23,8	DIMETHYSTYRENE ISOMERE	0,01		
35	24,3	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,04		
36	25,8	alpha-CUBEBENE	0,23		
37	26,3	alpha-LONGIPINENE	0,06		
38	27,1	BICYCLOELEMENE	0,04		
39	27,3	SESQUITERPENE	0,01		
40	27,4	YLANGENE	0,01		
41	27,9	alpha-COPAENE	0,41		
42	28,2	alpha-PINOCAMPHONE	0,01		
43	28,9	beta-BOURBONENE	0,04		
44	29,4	SESQUITERPENE	0,01		
45	29,8	alpha-GURJUNENE	0,01		
46	30,1	beta-PINOCAMPHONE	0,01		
47	30,6	beta1-CUBEBENE	0,11		
48	30,8	LINALOL	0,02		0,02
49	31,4	PINOCARVONE	0,02		
50	31,8	trans-p-MENTH-2-EN-1-OL	0,02		
51	32,0	NOPINONE	0,02		
52	32,3	LONGIFOLENE	0,29		
53	32,8	epsilon-CADINENE	0,03		
54	33,0	ACETATE DE BORNYLE	0,20		
55	33,1	FENCHOL	0,04		
56	33,8	METHYL THYMOL ETHER	0,20		
57	34,0	beta-ELEMENE	0,49		
58	34,3	**beta-CARYOPHYLLENE**	**4,58**		
59	34,4	TERPINENE-4-OL	0,03		
60	34,5	SESQUITERPENE	0,02		
61	34,6	AROMADENDRENE	0,06		
62	34,8	6,9-GUIAIDIENE	0,46		
63	35,6	MYRTENAL	0,04		
64	36,3	CADINA-3,5-DIENE	0,17		
65	36,6	GERMACRENE A	0,14		

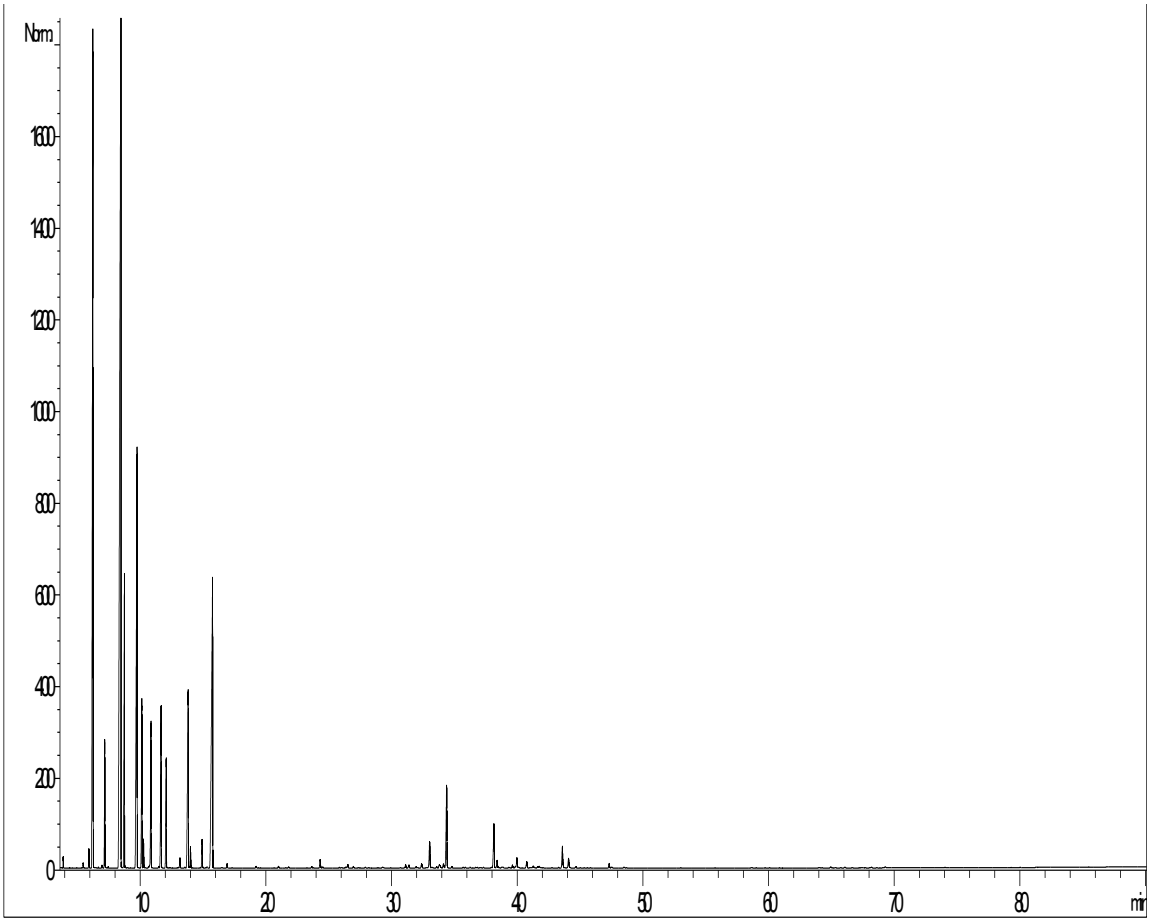
66	37,0	CADINENE ISOMERE	0,02		
67	37,3	trans-PINOCARVEOL	0,07		
68	38,0	ZONARENE	0,24		
69	38,4	alpha-HUMULENE	0,68		
70	38,5	Cis-4,5-MUUROLADIENE	0,15		
71	38,8	gamma-SELINENE	0,14		
72	39,1	SESQUITERPENE	0,04		
73	39,6	gamma-MUUROLENE	0,51		
74	39,9	ACETATE DE TERPENYLE	0,30		
75	40,0	alpha-TERPINEOL	0,07		
76	40,1	LEDENE	0,07		
77	40,7	GERMACRENE D	0,42		
78	41,0	MUUROLENE ISOMERE	0,27		
79	41,3	beta-SELINENE	0,68		
80	41,4	SESQUITERPENE	0,05		
81	41,6	alpha-SELINENE	0,58		
82	41,8	alpha-MUUROLENE	0,69		
83	42,2	BICYCLOGERMACRENE	1,06		
84	42,1	beta-BISABOLENE	0,01		
85	42,5	SESQUITERPENE	0,01		
86	43,8	**delta-CADINENE**	**5,89**		
87	43,9	gamma-CADINENE	0,32		
88	44,0	2-DODECANONE	0,02		
89	44,6	alpha-BISABOLENE	0,01		
90	45,0	CADINA-1,4-DIENE	0,11		
91	45,3	MYRTENOL	0,03		
92	45,6	alpha-AMORPHENE	0,15		
93	46,7	2-TRIDECANONE	0,01		
94	47,0	Trans-CARVEOL	0,01		
95	47,5	CALAMENENE ISOMERE	0,02		
96	47,8	CALAMENENE	0,03		
97	48,2	m-CYMENE-8-OL	0,01		
98	48,5	p-CYMENE-8-OL	0,03		
99	50,9	épi-CUBEBOL	0,02		
100	52,2	alpha-CALACORENE	0,02		
101	53,6	CUBEBOL	0,02		
102	55,7	OXYDE DE CARYOPHYLLENE	0,05		
103	58,6	époxy-6,7-HUMULENE	0,01		
104	59,3	GERMACRA-1,5-DIEN-4-OL	0,01		
105	59,7	Epi-CUBENOL	0,04		
106	60,1	CUBENOL	0,05		
107	60,5	GLOBULOL	0,02		
108	61,0	VIRIDIFLOROL	0,01		
109	62,1	10-épi-gamma-EUDESMOL	0,01		
110	63,0	SPATHULENOL	0,09		
111	65,3	T-CADINOL	0,12		
112	66,1	alpha-MUUROLOL	0,12		
113	66,6	delta-CADINOL	0,03		
114	67,9	ISOSPATHULENOL	0,01		
115	68,2	alpha-CADINOL	0,17		
116	69,1	EUDESMA-7(11)-EN-4-OL	0,02		
		TOTAL	**99,87**		**1,17**

Annexe n° 7

CPG sapin de douglas – Analyse Décembre 2017

HE Pin douglas *Pseudotsuga menziesii*
N° de lot : SD
Origine : -
Partie de plante : aiguilles
Date d'analyse : 12/12/2017

. CPG 7890 / SM 5975 – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. CPG 6890 FID – Colonne : VF WAX (polaire) 60 m * 0.25 mm * 0.5 µm
. Programmation de température : 60 °C (6 min) – 5 °C/min → 250 °C (20min)
. Gaz vecteur : He (23 psis/SM – 30 psis/FID)
. Injection / split : 1 µl d'une solution à 10 % dans l'hexane
. Gamme de masse : 30 à 350 - Les composés sont identifiés par une recherche combinée des temps de rétention (notre propre bibliothèque) et des spectres de masse (librairie NKS, 75 000 entrées)
. Les pourcentages sont calculés à partir des surfaces de pics données par le CPG/FID, sans l'utilisation de facteur de correction



Pic	TR (min)	Constituant	%	Normes (%)	Allergènes (%)
1	3,9	ACETONE	0,08		
2	5,5	SANTENE	0,06		
3	5,9	TRICYCLENE	0,26		
4	6,2	**alpha-PINENE**	**15,68**		
5	6,3	alpha-THUYENE	0,10		
6	7,0	alpha-FENCHENE	0,04		
7	7,2	CAMPHENE	1,81		
8	8,5	**beta-PINENE**	**32,24**		
9	8,7	**SABINENE**	**4,66**		
10	8,8	PINADIENE	0,02		
11	9,7	**delta3-CARENE**	**10,72**		
12	10,1	**beta-MYRCENE**	**2,74**		
13	10,3	alpha-PHELLANDRENE	0,37		
14	10,4	psy-LIMONENE	0,01		
15	10,6	o-CYMENE	0,02		
16	10,8	**alpha-TERPINENE**	**2,57**		
17	11,6	**LIMONENE**	**3,12**		3,12
18	12,0	beta-PHELLANDRENE	1,94		
19	13,1	Cis-beta-OCIMENE	0,17		
20	13,8	**gamma-TERPINENE**	**4,27**		
21	14,0	Trans-beta-OCIMENE	0,35		
22	14,7	m-CYMENE	0,01		
23	14,9	p-CYMENE	0,52		
24	15,3	ISOTERPINOLENE	0,03		
25	15,7	**TERPINOLENE**	**10,48**		
26	16,9	4,8-DIMETHYL-1,3,7-NONATRIENE	0,08		
27	19,2	1-HEXANOL	0,02		
28	19,3	Trans-OXYDE DE ROSE	0,02		
29	20,9	3-HEXEN-1-OL	0,04		
30	21,8	COMPOSE MENTHATRIENIQUE	0,03		
31	23,6	ESTER ALIPHATIQUE	0,03		
32	24,3	CAPRYLATE D'ETHYLE	0,02		
33	24,5	alpha,p-DIMETHYLSTYRENE	0,19		
34	25,8	Epoxy-4,8-TERPINOLENE	0,01		
35	26,0	alpha-CUBEBENE + trans-THUYANOL	0,02		
36	26,3	alpha-LONGIPINENE	0,03		
37	26,4	delta-ELEMENE	0,08		
38	26,9	CITRONELLAL	0,03		
39	27,3	YLANGENE	0,01		
40	27,9	alpha-COPAENE	0,02		
41	28,2	CAMPHRE	0,01		
42	29,3	BENZALDEHYDE	0,03		
43	30,7	beta-PINOCAMPHONE	0,01		
44	31,1	LINALOL	0,08		0,08
45	31,3	SESQUITERPENE	0,07		
46	31,4	PINOCARVONE	0,01		
47	31,9	trans-p-MENTH-2-EN-1-OL	0,03		
48	32,0	ISOPULEGOL	0,02		
49	32,3	LONGIFOLENE	0,11		
50	32,7	TERPINENE-1-OL	0,01		
51	33,0	ACETATE DE BORNYLE	0,67		
52	33,2	FENCHOL	0,03		
53	33,6	METHYL THYMOL ETHER	0,03		

54	33,7	alpha-trans-BERGAMOTENE	0,05		
55	33,8	beta-ELEMENE	0,08		
56	34,1	beta-CARYOPHYLLENE	0,11		
57	34,4	TERPINENE-4-OL	2,08		
58	34,7	6,9-GUIAIDIENE	0,03		
59	35,6	MYRTENAL	0,02		
60	35,8	cis-p-MENTH-2-EN-1-OL	0,02		
61	36,2	SESQUITERPENE	0,03		
62	36,6	CADINENE ISOMERE	0,02		
63	37,1	SESQUITERPENE	0,02		
64	37,3	trans-PINOCARVEOL	0,02		
65	37,8	ESTRAGOL	0,01		
66	37,9	ZONARENE	0,02		
67	38,1	ACETATE DE CITRONELLYLE	1,13		
68	38,4	alpha-HUMULENE	0,22		
69	38,8	E-beta-FARNESENE + SESQUITERPRNE	0,04		
70	39,3	ACETATE DE MYRTENYLE	0,03		
71	39,6	gamma-MUUROLENE	0,07		
72	39,8	SESQUITERPENE	0,04		
73	40,0	alpha-TERPINEOL	0,24		
74	40,1	BORNEOL	0,03		
75	40,7	GERMACRENE D	0,18		
76	41,0	MUUROLENE ISOMERE	0,02		
77	41,2	CADINENE ISOMERE	0,08		
78	41,4	VALENCENE	0,01		
79	41,6	alpha-SELINENE	0,04		
80	41,7	alpha-MUUROLENE	0,06		
81	42,1	beta-BISABOLENE	0,01		
82	42,8	Trans-PIPERITOL	0,01		
83	43,6	ACETATE DE GERANYLE	0,51		
84	43,7	delta-CADINENE	0,05		
85	43,8	SALICYLATE DE METHYLE	0,01		
86	44,1	CITRONELLOL	0,27		0,27
87	44,6	alpha-BISABOLENE	0,03		
88	45,0	MYRTENOL	0,01		
89	45,5	COMPOSE TERPENIQUE	0,01		
90	45,8	BUTYRATE DE CITRONELLYLE	0,01		
91	47,3	Trans-ANETHOL	0,11		
92	47,5	GERMACRENE B	0,03		
93	48,5	p-CYMENE-8-OL	0,03		
94	48,6	GERANIOL	0,01		0,01
95	58,6	EPOXYDE SESQUITERPENIQUE	0,02		
96	64,0	PENTADECANAL	0,02		
97	64,9	T-CADINOL	0,03		
98	65,3	SESQUITERPENOL	0,01		
99	65,7	COMPOSE AROMATIQUE	0,01		
100	66,1	CADINOL ISOMERE	0,02		
101	68,2	alpha-CADINOL	0,02		
102	69,1	ACIDE CITRONELLIQUE	0,01		
103	69,2	beta-NOOTKATOL	0,04		
		TOTAL	**99,99**		**3,48**

BIBLIOGRAPHIE

1. CENFC. Forêts | Conservatoire d'Espaces Naturels de Franche-Comté [Internet]. 2017 [cité 11 nov 2017]. Disponible sur: http://cen-franchecomte.org/forets-art57

2. Franchomme P, Pénoël D. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois. Roger Jollois; 2001. 510 p.

3. Millet F. Le grand guide des huiles essentielles. Marabout (Hachette Livre); 2015. 512 p.

4. Baudoux D. L'aromathérapie : Se soigner par les huiles essentielles. Nouvelle édition. Amyris; 2008. 253 p.

5. Lardry J-M, Haberkorn V. L'aromathérapie et les huiles essentielles. Kinésithérapie Rev. 1 janv 2007;7(61):14-7.

6. Faucon M. Traité d'Aromathérapie Scientifique et Médicale. Fondements & Aide à la Prescription. Monographies : Huiles Essentielles, Huiles Végétales, Hydrolats Aromatiques. Sang de la Terre et Médial. 2012. 880 p.

7. Couic-Marinier F. Se soigner avec les huiles essentielles. edi8; 2016. 143 p.

8. DGCCRF : Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes. Les huiles essentielles [Internet]. Le portail des ministères économiques et financiers. 2016 [cité 17 oct 2017]. Disponible sur: https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publication/Vie-pratique/Fiches-pratiques/Huiles-essentielles

9. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Pharmacopée française [Internet]. 2017 [cité 12 nov 2018]. Disponible sur: https://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Pharmacopee-francaise-Plan-Preambule-index

10. Ordre National des Pharmaciens, Adenot I. Le Pharmacien et les Plantes : Cultiver votre expertise - Les cahiers de l'Ordre National des Pharmaciens [Internet]. 2014. Disponible sur: www.ordre.pharmacien.fr

11. Rama T, Héritier C. L'aromathérapie : un moyen antalgique pour soulager la douleur du travail et de l'accouchement ? [Internet]. Haute école de santé Genève; 2016 [cité 18 oct 2017]. Disponible sur: http://doc.rero.ch/record/277502

12. Fernandez X, Chemat F, Do T. Les huiles essentielles : vertus et applications. Vuibert; 2014. 309 p.

13. Aroma-Celte. Schéma distillation | Aroma Celte [Internet]. Huiles essentielles, mode d'obtention - Aroma-Celte.com. 2019 [cité 24 févr 2019]. Disponible sur: https://blog.aroma-celte.com/huiles-essentielles-mode-dobtention/schema-distillation/

14. Kaloustian J, Hadji-Minaglou F. La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie - Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Springer Science & Business Media; 2013. 219 p.

15. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils - A review. Food Chem Toxicol. 1 févr 2008;46(2):446-75.

16. Baxter H, Harborne JB, Moss GP. Phytochemical Dictionary : A Handbook of Bioactive Compounds from Plants, Second Edition. CRC Press; 1998. 988 p.

17. Von Rudloff E. Volatile leaf oil analysis in chemosystematic studies of North American conifers. Biochem Syst Ecol. 1 févr 1975;2(3):131-67.

18. Holopainen JK, Virjamo V, Ghimire RP, Blande JD, Julkunen-Tiitto R, Kivimäenpää M. Climate Change Effects on Secondary Compounds of Forest Trees in the Northern Hemisphere. Front Plant Sci. 2018;9:1445.

19. Couic-Marinier F, Lobstein A. Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actual Pharm. 1 avr 2013;52(525):18-21.

20. Couic-Marinier F, Lobstein A. Composition chimique des huiles essentielles. Actual Pharm. 1 avr 2013;52(525):22-5.

21. HEVEA Laboratoire. HEVEA - L'infini végétal [Internet]. 2018 [cité 4 févr 2018]. Disponible sur: http://action.labo-hevea.org/

22. McGarvey DJ, Croteau R. Terpenoid metabolism [Internet]. 1995 [cité 11 mars 2018]. Disponible sur: https://www-ncbi-nlm-nih-gov.scd1.univ-fcomte.fr/pmc/articles/PMC160903/

23. Tholl D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. Curr Opin Plant Biol. 1 juin 2006;9(3):297-304.

24. Grassmann J. Terpenoids as plant antioxidants. Vitam Horm. 2005;72:505-35.

25. Sharkey TD, Yeh and S. Isoprene Emission from Plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 2001;52(1):407-36.

26. Wikipédia, l'encyclopédie libre [Internet]. 2019 [cité 24 févr 2019]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/wiki/Wikip%C3%A9dia:Accueil_principal

27. Ivopol M, Nitulescu GM, Calinescu I, Dune A, Popescu M, Ivopol G, et al. GC/MS analysis and toxicity assessment of essential oils and extracts with antimicrobial activity obtained from plants belonging to Pinaceae and Cupressaceae. Toxicol Lett. 16 sept 2016;258(Supplement):S68.

28. Miguel MG. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. Molecules. 15 déc 2010;15(12):9252-87.

29. Ruberto G, Baratta MT. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. Food Chem. 1 mai 2000;69(2):167-74.

30. Santos MRV, Moreira FV, Fraga BP, Souza DP de, Bonjardim LR, Quintans-Junior LJ. Cardiovascular effects of monoterpenes: a review. Rev Bras Farmacogn. août 2011;21(4):764-71.

31. The Naturopathic Herbalist. Volatile Oils [Internet]. The Naturopathic Herbalist - Botanical Medicine For The Medical Student. 2013 [cité 26 mars 2018]. Disponible sur: https://thenaturopathicherbalist.com/plant-constituents/volatile-oils/

32. AFSSAPS. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles - Contribution pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques contenant des huiles essentielles. 2008.

33. Figueredo G. Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne [PhD Thesis]. Université Blaise Pascal-Clermont-Ferrand II; 2007.

34. Baser KH., Buchbauer G. Handbook of essential oils : science, technology and applications. CRC Press; 2009.

35. Les Phytalchimistes© L. Les Phytalchimistes [Internet]. Les Phytalchimistes. 2016 [cité 1 oct 2018]. Disponible sur: http://lesphytalchimistes.over-blog.com/tag/biochimie%20des%20h.e./

36. Morel JM. Traité pratique de phytothérapie. Grancher. 2008.

37. Conseil de l'Europe. Pharmacopée Européenne en ligne 9.6 - 2.2.27. Chromatographie sur couche mince. In: 9.6. Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé; 2019.

38. SchoolMouv. Réaliser une chromatographie sur couche mince - Fiche pratique [Internet]. 2016 [cité 24 févr 2019]. Disponible sur: https://schoolmouv.fr/savoir-faire/realiser-une-chromatographie-sur-couche-mince-ccm-/fiche-pratique

39. Conseil de l'Europe. Pharmacopée Européenne en ligne 9.6 - 2.2.28. Chromatographie en phase gazeuse. In: 9.6. Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé; 2019.

40. Tranchant J. Chromatographie en Phase Gazeuse. Ed. Techniques Ingénieur; 1967. 112 p.

41. Faculté des Sciences d'Orsay. Chromatographie en phase gazeuse - Cours de la Faculté des Sciences d'Orsay [Internet]. Cours de chromatographie. [cité 24 févr 2019]. Disponible sur: https://www.masterchimie1.u-psud.fr/Chromatoweb/CPG.html

42. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Les huiles essentielles [Internet]. ansm.sante.fr; 2017 [cité 13 sept 2018]. Disponible sur: https://ansm.sante.fr/Activites/Medicaments-a-base-de-plantes/Les-huiles-essentielles/(offset)/3

43. Couic-Marinier F, Lobstein A. Mode d'utilisation des huiles essentielles. Actual Pharm. 1 avr 2013;52(525):26-30.

44. Fernandez X, Andre C, Casale A. Hydrolats et eaux florales : Vertus et applications. Vuibert; 2014. 297 p.

45. Aromacomtois. Aromacomtois - Huiles essentielles des montagnes du Jura [Internet]. Aromacomtois. 2018 [cité 21 janv 2018]. Disponible sur: http://aromacomtois.fr/

46. Aromacomtois. Aromacomtois - Initiative Doubs Territoire de Belfort, membre d'INITIATIVE FRANCE, 1er réseau associatif de financement des créateurs d'entreprise [Internet]. 2018 [cité 11 janv 2018]. Disponible sur: http://www.initiative-doubsterritoiredebelfort.fr/laureats/aromacomtois.html

47. Institut National de l'Information Géographique et Forestière. La GRECO E : Jura et ses SER - Inventaire Forestier [Internet]. 2017 [cité 11 janv 2018]. Disponible sur: https://inventaire-forestier.ign.fr/spip.php?article786

48. Rameau J-C, Mansion D, Dumé G. Flore forestière française : guide écologique illustré. Montagnes. Forêt privée française; 1989. 4862 p.

49. Dupont F, Guignard J-L. Gymnospermes ou Plantes à ovules nus. In: Botanique (16e édition) [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2015 [cité 17 nov 2017]. p. 59-75. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294741173000086

50. Kubeczka K-H, Schultze W. Biology and chemistry of conifer oils. Flavour Fragr J. 1 oct 1987;2(4):137-48.

51. Reille M. Images de quelques arbres et arbustes communs en Lozère et ailleurs, Connaissance et reconnaissances. 2010.

52. Plantes et botanique. Famille des Pinaceae - Taxonomie [Internet]. Plantes et botanique. 2018 [cité 6 mai 2018]. Disponible sur: https://www.plantes-botanique.org/famille_Pinaceae

53. Häne K, Kaennel Dobbertin M. Le sapin pectiné ou sapin blanc. For - Echos Rech Mon Beau Sapin Roi For. déc 2006;22-3.

54. Benković ET, Grohar T, Žigon D, Švajger U, Kreft S, Štrukelj B, et al. Chemical composition of the silver fir (Abies alba) bark extract Abigenol® and its antioxidant activity. Ind Crops Prod. 1 janv 2014;52(Supplement C):23-8.

55. Myrtéa Formations. L'aromathèque [Internet]. Myrtéa - La Formation Essentielle; 2018 [cité 30 nov 2018]. Disponible sur: www.myrtea-formations.com

56. Office National des Forêts. L'Épicéa, l'arbre de Noël [Internet]. 2017 [cité 11 janv 2018]. Disponible sur: http://www.onf.fr/activites_nature/sommaire/decouvrir/arbres/resineux/@@index.html

57. Office National des Forêts. Le pin sylvestre : un vaste habitat [Internet]. 2017 [cité 11 janv 2018]. Disponible sur: http://www.onf.fr/activites_nature/sommaire/decouvrir/arbres/resineux/20071025-082238-765491/@@index.html

58. Mauric N. Pin sylvestre Pinus sylvestris [Internet]. Jardin ! L'encyclopédie par la Société des Gens de Lettres. [cité 18 oct 2017]. Disponible sur: http://nature.jardin.free.fr/arbre/ft_pinus_syl.html

59. Ybert E, De Laage de Meux A. Encyclopédie des Plantes Médicinales. Identification, préparations, soins. Larousse; 2001.

60. SARL ABC de la nature - Laboratoire de phyto-aromathérapie. Huile essentielle Pin Sylvestre bio [Internet]. ABC de la nature - Laboratoire de phyto-aromathérapie. 2018 [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: https://www.abcdelanature.com/p-465-huile-essentielle-pin-sylvestre-bio.html

61. Futura Planète. Sapin de Douglas - Botanique, arbre, sapin [Internet]. Futura Planète. [cité 28 nov 2017]. Disponible sur: http://www.futura-sciences.com/planete/definitions/botanique-sapin-douglas-9311/

62. Hermann RK, Lavender DP. Pseudotsuga menziesii (Mirb.) Franco Douglas-fir. Silv N Am. 1990;1:527–540.

63. Wikipédia. Pseudotsuga menziesii. In: Wikipédia [Internet]. 2018 [cité 30 nov 2018]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Pseudotsuga_menziesii&oldid=154272944

64. Les arbres. Sapin de Douglas ou Faux Tsuga, Pseudotsuga menziessi [Internet]. 2010 [cité 28 nov 2017]. Disponible sur: http://www.lesarbres.fr/douglas.html

65. Wikipédia. Térébenthine [Internet]. 2018 [cité 12 nov 2018]. Disponible sur: https://fr.wikipedia.org/wiki/T%C3%A9r%C3%A9benthine

66. Ghanmi M, Satrani B, Aafi A, Isamili MR, Houti H, El Monfalouti H, et al. Effet de la date de récolte sur le rendement, la composition chimique et la bioactivité des huiles essentielles de l'armoise blanche (Artemisia herba-alba) de la région de Guerçif (Maroc oriental). Phytothérapie. 1 oct 2010;8(5):295-301.

67. Kaloustian J, Chevalier J, Mikail C, Martino M, Abou L, Vergnes M-F. Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. Phytothérapie. 1 juin 2008;6(3):160-4.

68. Dantin D. Pyrenessences - Analyses & Productions [Internet]. 2010 [cité 17 sept 2018]. Disponible sur: http://www.pyrenessences.com/analyses.html

69. Chalchat J., Michet A, Garry RP. Huiles essentielles de résineux d'Auvergne : pin sylvestre, épicéa, sapins pectine et de Vancouver, Douglas. Parfums Cosmétiques Arômes. 1986;(69):55-8.

70. Yatagai M, Sato T. Terpenes of Leaf Oils from Conifers. Biochem Syst Ecol. 2 oct 1986;14(5):469-78.

71. Duquesnoy E, Castola V, Casanova J. Composition and chemical variability of the twig oil of Abies alba Miller from Corsica. Flavour Fragr J. 1 juill 2007;22(4):293-9.

72. Pokorska O, Dewulf J, Amelynck C, Schoon N, Šimpraga M, Steppe K, et al. Isoprene and terpenoid emissions from Abies alba: Identification and emission rates under ambient conditions. Atmos Environ. 1 nov 2012;59:501-8.

73. Conseil de l'Europe. Pharmacopée Européenne en ligne 9.6 - Pin sylvestre (huile essentielle de). In: 9.6. Direction Européenne de la qualité du médicament et soins de santé; 2019.

74. Rudloff E von. Chemosystematic studies in the genus Pseudotsuga. I. Leaf oil analysis of the coastal and Rocky Mountain varieties of the Douglas fir. Can J Bot. 1 mai 1972;50(5):1025-40.

75. Burt S. Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods - a review. Int J Food Microbiol. 1 août 2004;94(3):223-53.

76. Kartnig T, Still F, Reinthaler F. Antimicrobial activity of the essential oil of young pine shoots (Picea abies L.). J Ethnopharmacol. 1 déc 1991;35(2):155-7.

77. Remmal A, Bouchikhi T, Rhayour K, Ettayebi M, Tantaoui-Elaraki A. Improved Method for the Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils in Agar Medium. J Essent Oil Res. 1 mars 1993;5(2):179-84.

78. Garneau F-X, Collin GJ. Valorisation de la biomasse végétale par les produits naturels: actes du colloque de Chicoutimi 22 au 25 août 1993. CRDI, Ottawa, ON, CA; 1995.

79. Lis-Balchin Maria, Deans Stanley G., Eaglesham Elizabeth. Relationship between bioactivity and chemical composition of commercial essential oils. Flavour Fragr J. 21 déc 1998;13(2):98-104.

80. Hong E-J, Na K-J, Choi I-G, Choi K-C, Jeung E-B. Antibacterial and Antifungal Effects of Essential Oils from Coniferous Trees. Biol Pharm Bull. 2004;27(6):863-6.

81. Mourey A, Canillac N. Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. Food Control. 1 juin 2002;13(4):289-92.

82. Bağci E, Diğrak M. Antimicrobial Activity of Essential Oils of some Abies (Fir) Species from Turkey. Flavour Fragr J. 1 juill 1996;11(4):251-6.

83. Ruiz J, Drezet C. La Passion des Huiles Essentielles et des Eaux Florales.

84. Abiessence. Huile essentielle de Pin sylvestre [Internet]. Abiessence. [cité 15 avr 2018]. Disponible sur: http://www.abiessenceconseil.com/huile-essentielle-de-pin-sylvestre

85. Abiessence. Huile essentielle de Douglas [Internet]. Abiessence. [cité 8 sept 2018]. Disponible sur: http://www.abiessenceconseil.com/huile-essentielle-de-douglas

86. Billerbeck V-G de. Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Phytothérapie. 1 déc 2007;5(5):249-53.

87. Masraff J. Importance des odeurs pour le patient et pour le personnel soignant, Summary. InfoKara. 2005;20(1):3-6.

88. Ali B, Al-Wabel NA, Shams S, Ahamad A, Khan SA, Anwar F. Essential oils used in aromatherapy : A systemic review. Asian Pac J Trop Biomed. 1 août 2015;5(8):601-11.

89. Kim D-S, Lee H-J, Jeon Y-D, Han Y-H, Kee J-Y, Kim H-J, et al. Alpha-Pinene Exhibits Anti-Inflammatory Activity Through the Suppression of MAPKs and the NF-κB Pathway in Mouse Peritoneal Macrophages. Am J Chin Med. 1 janv 2015;43(04):731-42.

90. Babulka P. Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. Phytothérapie. 1 août 2007;5(3):137-45.

91. Devillez J. Traumatologie : apport du massage aromatique. Phytothérapie. 1 déc 2012;10(6):374-81.

92. Câmara CC, Nascimento NRF, Macêdo-Filho CL, Almeida FBS, Fonteles MC. Antispasmodic Effect of the Essential Oil of Plectranthus barbatus and some Major Constituents on the Guinea-Pig Ileum. Planta Med. déc 2003;69(12):1080-5.

93. Lardry J-M. Les autres indications des huiles essentielles. Kinésithérapie Rev. 1 janv 2007;7(61):35-42.

94. Maroy D, Kinet V, Gatellier M. L'usage de l'aromathérapie en soins palliatifs. In: Manuel de soins palliatifs [Internet]. Dunod; 2014 [cité 28 oct 2018]. p. 783-806. Disponible sur: https://www.cairn.info/resume.php?ID_ARTICLE=DUNOD_JACQU_2014_01_0783

95. Chalchat J-C, Sidibé L, Maksimovic ZA, Petrovic SD, Gorunovic MS. Essential Oil of Abies alba Mill., Pinaceae, from the Pilot Production in Montenegro. J Essent Oil Res. 1 juill 2001;13(4):288-9.

96. Goossens A, Lepoittevin JP. Allergie de contact aux cosmétiques et aux composants de parfums : aspects cliniques, chimiques et diagnostiques nouveaux. Rev Fr Allergol Immunol Clin. 1 sept 2003;43(5):294-300.

97. European Commission - Independent European Scientific Committee on Consumer Safety. Allergenic fragrances in cosmetic products [Internet]. Santé et consommateurs - Comités scientifiques. 2012 [cité 11 sept 2018]. Disponible sur: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/perfume-allergies/fr/apropos-allergies-parfum.htm

98. Muther L. Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant [PhD Thesis]. Thèse d'exercice, Univeristé d'Auvergne; 1989.

99. Goetz P, Ghédira K. Phytothérapie anti-infectieuse. Springer Science & Business Media; 2012. 385 p.

100. Puressentiel, leader mondial de l'aromathérapie. Gamme Respiratoire / RESP OK® - Réponse Naturelle [Internet]. Puressentiel. 2018 [cité 11 déc 2018]. Disponible sur: https://fr.puressentiel.com/

101. Naturactive, Laboratoires Pierre Fabre. Pastille Respiratoire aux essences [Internet]. Naturactive. 2017 [cité 11 déc 2018]. Disponible sur: https://www.naturactive.fr/reponses-sante-naturelles/gamme-aux-essences-orl/pastille-respiratoire-aux-essences

102. Weleda. Gamme Respiratoire Assainissant [Internet]. Weleda. 2018 [cité 11 déc 2018]. Disponible sur: http://www.weleda.fr/

103. Pranarôm, Origine Naturelle. Huiles essentielles et végétales [Internet]. Origine Naturelle. 2018 [cité 11 déc 2018]. Disponible sur: https://www.origine-naturelle.com/pranarom.html

104. République Française. Loi n° 75-1334 du 31 décembre 1975 relative à la sous-traitance [Internet]. déc 31, 1975. Disponible sur: Legifrance.gouv.fr

105. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Guide des Bonnes Pratiques de Fabrication. ansm.sante.fr; 2016.

106. Aromacomtois. Aromacomtois & Nature et Progrès [Internet]. Aromacomtois. [cité 8 mai 2018]. Disponible sur: http://aromacomtois.fr/nature-progres/

107. Nature et Progrès. Fédération d'associations de consommateurs et producteurs bio [Internet]. 2017 [cité 8 févr 2018]. Disponible sur: http://www.natureetprogres.org/nature_et_progres/natureetprogres.html

108. Aromacomtois. Aromacomtois - Contacter la sociéte - Huiles essentielles de sapin [Internet]. Aromacomtois. 2018 [cité 8 mai 2018]. Disponible sur: http://aromacomtois.fr/contacts/

109. République Française. Décret n° 2007-1198 du 3 août 2007 modifiant l'article D. 4211-13 du code de la santé publique relatif à la liste des huiles essentielles dont la vente au public est réservée aux pharmaciens [Internet]. 2007-1198 août 3, 2007. Disponible sur: Legifrance.gouv.fr

110. Pons A, Mouakka N, Deliere L, Crachereau J-C, Davidou L, Sauris P, et al. Impact of Plasmopara viticola infection of Merlot and Cabernet Sauvignon grapes on wine composition and flavor - ScienceDirect [Internet]. 2017 [cité 26 oct 2018]. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814617310695

111. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Glossaire [Internet]. 2017 [cité 3 mars 2018]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/Glossaire/(filter)/P#term_16646

112. ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Réglementation des produits cosmétiques [Internet]. 2016 [cité 3 mars 2018]. Disponible sur: http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-produits-cosmetiques/Reglementation-des-produits-cosmetiques/(offset)/3

113. Journal Officiel de l'Untion Européenne. Règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 30 Novembre 2009, relatif aux produits cosmétiques. 2009.

114. Savons Arthur. Les étapes lors de la conception de nos savons [Internet]. Savons Arthur. 2017 [cité 14 nov 2018]. Disponible sur: https://savons-arthur.bio/conception

115. AromaZone. Le Potentiel Oxydatif des Huiles Végétales [Internet]. AromaZone.com. 2018 [cité 14 nov 2018]. Disponible sur: https://www.aroma-zone.com/info/dossier-thematique/le-potentiel-oxydatif-des-huiles-vegetales

116. Gedda M. Les huiles essentielles : introduction à l'aromathérapie. Kinésithérapie Rev. 1 janv 2007;7(61):13.

PERMIS D'IMPRIMER

Thèse pour obtenir le **Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

Présentée par **Lola Keraudren**

Née le **19 Avril 1994** à **Pontarlier (25)**

Et ayant pour titre : **Huiles essentielles d'aiguilles de conifères du massif Jurassien : Récolte et distillation de la matière première - Analyse des huiles essentielles - Mise sur le marché de produits finis**

Vu,

Besançon, le 3 avril 2019

Le Président du jury de thèse,

PHARMACOGNOSIE
UFR Sciences médicales et pharmaceutiques
19, rue Ambroise Paré - Bâtiment Socrate
CS 71806
25030 BESANÇON Cedex

Professeur Corine GIRARD

Vu et Approuvé,

Besançon, le 11/04/2019

Pour le Président et par délégation,
Pour le Directeur de l'UFR SMP,
Le Doyen de Pharmacie,

Le Directeur Adjoint Pharmacie
de l'UFR SANTE

Professeur X. BERTRAND

Professeur Xavier BERTRAND

RÉSUMÉ

Lola Keraudren

Thèse soutenue le 17 Mai 2019

Titre de la thèse : **Huiles essentielles d'aiguilles de conifères du massif Jurassien : Récolte et distillation de la matière première - Analyse des huiles essentielles - Mise sur le marché de produits finis**

Le massif du Jura est caractérisé par la présence de grandes forêts de conifères. En raison de cette richesse écologique, et dans le but de la valoriser, la société Aromacomtois s'est lancée dans la production d'HE issues des aiguilles de ces différents résineux.

Afin d'exploiter les vertus de ces HE, nombreuses sont les branches de sapin blanc (*Abies alba*), d'épicéa commun (*Picea abies*), de pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) et de sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii*) qui ont été récoltées dans les forêts du massif puis broyées et distillées. Les HE ainsi obtenues ont ensuite été analysées par chromatographie en phase gazeuse, ce qui a permis de connaître leurs compositions biochimiques précises. A partir de ces données et de la littérature, nous avons pu constater que les HE provenant des aiguilles de conifères du massif Jurassien sont très riches en composés terpéniques, leur conférant un grand nombre de propriétés médicinales bénéfiques et variées.
Aromacomtois a fait le choix de fabriquer en parallèle des produits dérivés : cosmétiques, confiseries, parfum d'ambiance assainissant... dans le but de faire connaître ces HE. Ces différents produits bio et prêts à l'emploi sont de qualité. Ils sont fabriqués dans le respect des Hommes et de l'Environnement.

Ce travail de thèse permet de présenter les différentes étapes nécessaires à la réalisation de ce projet de production : de la récolte de la matière première dans les forêts du massif Jurassien à la mise sur le marché des produits finis.

Mots clés : Aromathérapie - Huile essentielle - Hydrolat aromatique - Conifères - Résineux - Massif du Jura - Sapin blanc - Epicéa commun - Pin sylvestre - Sapin de Douglas - Chromatographie - Terpènes - Aromatogramme - Produit cosmétique - Huile de massage