

CARACTERISATION ET UTILISATION DES HUILES ESSENTIELLES D' HELICHRYSIUM FARADIFANI ET DE CINNAMOSMA MADAGASCARIENSIS OBTENUES PAR HYDRODISTILLATION AVEC UN ALAMBIC AUTOMATISE

1-ANDRIANOMENTSOA BEZANAHARY HANITRINIVONY

Ecole Doctorale Ingénierie et Géoscience (INGE)

2- RAFATRO HERINTSOA

Professeur Titulaire de Pharmacologie

Faculté de Médecine

Université d'Antananarivo

3 Docteur RALIJAONA HERILALA TAFITASOLONIAINA

Ecole Doctorale Ingénierie et Géoscience (INGE)

Université d'Antananarivo

4- HERITAHINA RAMBELOSON

Maitre de Conférences

Ecole Doctorale Ingénierie et Géoscience (INGE)

Université d'Antananarivo

5- Docteur ANDRIAMBININTSOA RANAIVOSON TOJONIRINA

Laboratoire de Chimie Inorganique et Chimie Industrielle

Faculté des Sciences- Université d'Antananarivo

RESUME

Les plantes médicinales constituent un patrimoine précieux pour l'humanité et plus particulièrement pour la majorité des communautés démunies des pays en voie de développement qui en dépendent pour assurer leurs soins de santé primaires et leurs subsistances. La flore de Madagascar est l'une des plus riches au monde et possède de nombreuses plantes aromatiques et médicinales et bon nombre d'entre elles sont des espèces endémiques. Les huiles essentielles issues de ces plantes aromatiques ont été depuis toujours employées par le monde entier à cause de leurs traditionnelles vertus thérapeutiques. Ce travail, réalisé en collaboration avec l'équipe de l'INGE et IMRA, s'inscrit dans le cadre de la valorisation, d'une part, des plantes médicinales comme l'*Helichrysum Faradifani* et le *Cinnamosma Madagascariensis*; et d'autre part, de leurs huiles essentielles par l'intermédiaire d'une éventuelle base de données pouvant se servir de référentiel scientifique.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile essentielle effectués au laboratoire de CNRE-Tsimbazaza Antananarivo sont en accord avec ceux des normes AFNOR et ceux de la littérature montrant ainsi la qualité et l'efficacité de l'alambic automatisé que nous avons élaboré. L'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Helichrysum Faradifani* a montré un effet sensible contre toutes les bactéries de la souche *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724 tandis que celle des huiles essentielles de *Cinnamosma madagascariensis* présente une certaine sensibilité aux bactéries de souches *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Salmonella enteridis* et *Bacillus cereus* ATCC 13061. L'analyse chromatographique CPG/MS a montré que les huiles essentielles d'*Helichrysum faradifani* de Tsimivadidrazana, Commune d'Ikalalao, Sous-préfecture d'Ambohimahaso, Région Haute Matsiatra sont de type α -fenchène/ar-curcumène (40.40% - 8.80%) tandis que celles du *Cinnamosma Madagascariensis* de la forêt de Lakato – Moramanga – Faritany Toamasina sont de type linalol (58.10%). L'ACP révèle la ressemblance qualitative des constituants des huiles essentielles que nous avons étudiées. Les conseils d'utilisation ainsi que les propriétés thérapeutiques des constituants contribuent à la valorisation des huiles essentielles d'*Helichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis* que nous avons étudiées.

Mots-clés : *Helichrysum Faradifani*, *Cinnamosma Madagascariensis*, physico-chimiques, CPG/SM, AFNOR, propriétés thérapeutiques.

1-INTRODUCTION

Depuis toujours, l'homme cherche dans les plantes de quoi s'alimenter et se soigner. Les plantes aromatiques, les plantes odorantes contenant des composés volatiles pouvant être extraits par divers procédés mécaniques ou chimiques, sous formes d'huiles essentielles, avec des vertus antibactériennes et antiputrides de certaines HE, d'où la notion d'aromathérapie [1,2]. L'aromathérapie utilise un ensemble de molécules car une seule huile essentielle peut contenir plus de 200 molécules. Celles-ci agissent de façon individuelle mais le plus souvent en synergie. Cela rend parfois les huiles essentielles plus efficaces que certaines molécules utilisées individuellement mais complique l'analyse et la compréhension du mécanisme pharmacologique [3,4].

Avec près de 10 000 plantes endémiques, Madagascar possède une flore tropicale unique au monde. Nombre de ces plantes sont aujourd'hui connues pour leurs vertus médicinales en aromathérapie [5], [w-1].

La phytothérapie et l'aromathérapie doivent leur renom à l'utilisation des substances odorantes issues des plantes. Cependant, rares sont les recherches concernant les plantes aromatiques et médicinales d'*Hélichrysum Faradifani* et *Cinnamosma Madagascariensis*, pourtant leur mode d'utilisation et leurs indications dans le domaine de médecine traditionnelle sont connus de la plupart des populations rurales de Madagascar [5].

Par un procédé de distillation à la vapeur d'eau, les plantes aromatiques de Madagascar sont valorisées sous forme d'huiles essentielles. De par leurs vertus antiseptiques, antivirales, apaisantes ou encore cicatrisantes, ces essences aromatiques constituent une médecine naturelle capable de soulager en quelques prises les douleurs et maux du quotidien.

La caractérisation physico-chimique de ces huiles essentielles d'*Hélichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis* permettra alors de mettre en exergue leur valorisation à des fins thérapeutiques.

Ainsi, les objectifs spécifiques sont :

- Elaborer un alambic automatisé pour le procédé d'extraction des huiles essentielles ;
- Obtenir des résultats depuis l'extraction jusqu'aux analyses physico-chimiques, chromatographique et statistique des huiles essentielles d'*Hélichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis*.
- Contribuer à l'étude des propriétés thérapeutiques des constituants des huiles essentielles d'*Hélichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis*.

Hélichrysum Faradifani

Le genre *Helichrysum* appartient à la famille des ASTERACEAES

- Règne : Végétal
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous-embranchement : Angiospermes
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Magnoliidae
- Ordre : Asteridae
- Famille : Asteraceae
- Genre : Helichrysum
- Espèce : faradifani
- Nom vernaculaire : "Ahibalala"

Les feuilles de *Helichrysum Faradifani* ont été récoltées le 20 septembre 2019 (saison sèche) et le 22 novembre 2019 (saison des pluies) à Tsimivadidrazana, Commune d'Ikalalao, Sous-Préfecture d'Ambohimahaso, Région Haute Matsiatra dont les coordonnées GPS sont :

- Latitude sud 21°10'

- Longitude est 49°49'

- Altitude 1439m

Lors de la cueillette, la température étant de 19° en saison sèche et 21° en saison de pluies.

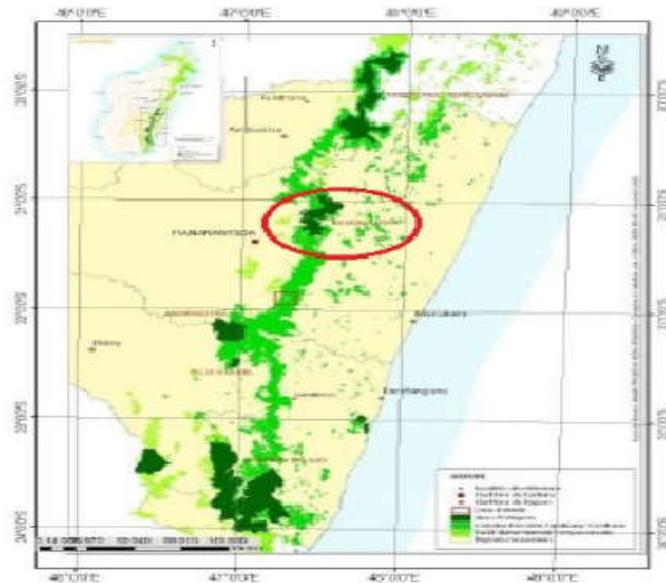


Figure 1 : Point de localisation et lieu de récolte de *Helichrysum Faradifani*

Cinnamosma Madagascariensis

Arbre persistant (haut : 10-20 m). Feuilles ovales lancéolées ou ovales (long : 4-8 cm, large : 2-4 cm), coriaces, à la base atténuée, à l'apex obtus, au pétiole glabre (long : 2-6 mm). Fleurs aux sépales caducs et inégaux (long : 1-2 mm), à la corolle tubuleuse (long : 5 mm), avec 4-5 lobes, solitaires ou groupées par 3-5 en fascicules axillaires. Baies globuleuses (diam : 1,5-2 cm).

Nous avons effectué deux récoltes de feuilles le 27 septembre 2019 (saison sèche) et le 29 novembre 2019 (saison de pluies) dans la forêt de Lakato à Moramanga, Faritany de Toamasina, d'altitude 1234m. La figure 2 montre le lieu de récolte et les points de localisation de *Cinnamosma Madagascariensis*. Lors de la cueillette, la température étant de 19° en saison sèche et 22° en saison de pluies



Figure 2 : Point de localisation et lieu de récolte de *Cinnamosma Madagascariensis*

2-MATERIELS D'EXTRACTION

Appareil de laboratoire de l'IMGP : Alambic automatisé

L'ensemble du dispositif utilisé pour l'hydrodistillation est un alambic conçu et confectionné au laboratoire de l'IMGP. C'est un appareil destiné à la séparation de produits par chauffage puis refroidissement (distillation) dont la figure synoptique est représentée à la figure 3.

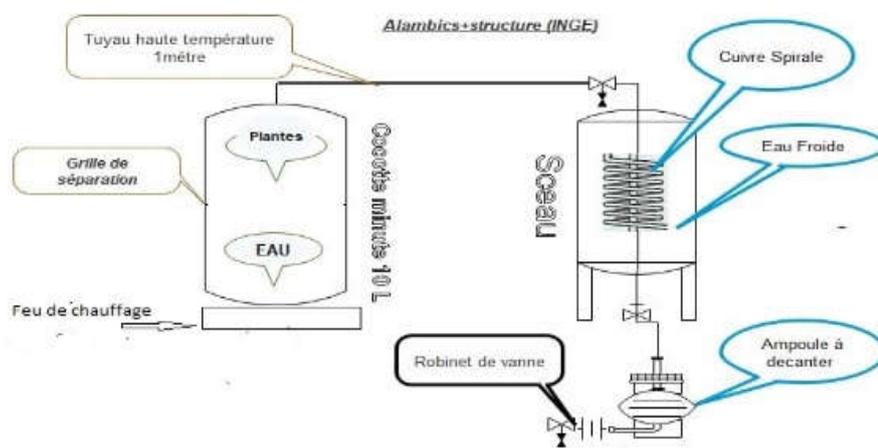


Figure 3 : Schémas synoptique de l'alambic confectionné au Laboratoire de l'INGE

L'huile essentielle a été extraite à l'aide d'un alambic automatisé et modernisé, conçu et réalisé au laboratoire de l'IMGP de l'université d'Antananarivo. Le procédé d'extraction utilisé et adopté c'est l'hydrodistillation.

La chaleur provoque l'éclatement des cellules contenant les essences, libérant donc leur contenu. Les molécules aromatiques des HE ainsi que la vapeur d'eau sont condensées en traversant un système de refroidissement [13, 14].

Les gouttelettes d'eau-huile essentielle sont récupérées dans une ampoule à décanter. Deux phases non miscibles apparaissent : une phase huileuse surnageant et une phase aqueuse.

Pour débarrasser l'huile essentielle décantée des traces d'eau restante, on utilise le sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4) [15].

L'huile essentielle est conservée à 4°C dans des flacons opaques (verre de couleur foncée) pour une utilisation ultérieure [16].

Pour l'alambic de laboratoire de l'IMGP, 500g de matières végétales sont introduites dans la cocotte minutes. Le volume d'eau distillée utilisée étant 2 à 3 L et le mélange est porté à ébullition jusqu'après obtention de la première goutte d'huile essentielle.

3-METHODES

Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques (aspect, couleur, odeur) sont des indications qui permettent d'évaluer initialement la qualité d'une huile essentielle, mais comme ces propriétés ne donnent que des informations très limitées sur ces essences, il est nécessaire de faire appel à d'autres techniques de caractérisation plus précises telles que la caractérisation physico chimique, la chromatographie en phase gazeuse. En effet, la qualité d'une huile essentielle et sa valeur commerciale sont définies par des normes admises et portant des indices physicochimiques.

Analyses physicochimique

Plusieurs techniques et méthodes permettent d'analyser quantitativement et qualitativement les huiles essentielles [17, 18,19]

L'analyses physicochimiques s'avèrent les méthodes les plus utilisées dans le domaine des huiles essentielles [20] telles que :le rendement cumulé, densité relative, Indice de réfraction, Pouvoir rotatoire, Indice d'acide, Indice d'ester, Miscibilité à l'éthanol.

Quantification antioxydant

Un antioxydant désigne toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologique [26, 27]. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [28].

L'activité antioxydante des huiles essentielles que nous avons étudiées a été évaluée par la méthode de DPPH .La quantification antioxydante mesure la capacité à piéger 50% du radical libre par le pourcentage de décoloration du DPPH.

En effet, la concentration inhibitrice médiane (IC50) est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique.

Activité antimicrobienne

L'effet antibactérien vis-à-vis des souches bactériennes examinées a été évalué par la méthode de diffusion en milieu solide (aromatogramme). Ce test nous a permis de juger qualitativement l'activité antibactérienne de nos huiles essentielles à partir de la mesure des diamètres de zones d'inhibitions autour des disques qui contiennent les différentes huiles essentielles.

Sept souches bactériennes ont été testées pour ce test antimicrobien[29, 30, 31,32].

Analyses chromatographique

La chromatographie est encore une méthode physico-chimique qui sert à séparer les différentes substances présentes dans un mélange.

La première approche pour l'analyse d'une huile essentielle est l'utilisation du couplage «en ligne», tel que la CPG/SM, permettant l'identification des constituants. Les huiles essentielles peuvent être aussi soumises à un fractionnement par chromatographie sur colonne ouverte et ceci peut faciliter l'identification des composés minoritaires.

Analyses en Composantes Principales (ACP)

L'ACP est une méthode mathématique d'analyse graphique de données qui consiste à rechercher les directions de l'espace qui représentent le mieux les corrélations entre n variables aléatoires (relation linéaire entre elles).

Pour notre étude, l'ensemble des données a été traité par une méthode statistique descriptive dont l'Analyse en Composantes Principales (ACP) qui a été effectuée avec le logiciel R-studio.

4-RESULTATS et INTERPRETATIONS

Dans ce qui suit, nous allons noter par HE-3 et HE-1 les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation à partir de feuilles fraîches d'*Hélichrysum Faradifani* récoltées respectivement en saison sèche (20 septembre 2019) et en saison de pluies (22 novembre 2019) et par HE-4 et HE-2celles de *Cinnamosma Madagascariensis* récoltées respectivement en saison sèche (27 septembre 2019) et en saison de pluies (29 novembre 2019).

Propriétés organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de ces huiles essentielles sont résumées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques organoleptiques de ces huiles essentielles

		<i>Hélichrysum Faradifni</i>		<i>Cinnamosma Madagascariensis</i>	
Echantillons		HE-1	HE-3	HE-2	HE-4
Période de la cueillette		Saison de pluies	Saison sèche	Saison de pluies	Saison sèche
Propriétés organoleptiques	Aspect	Liquide fluide	Liquide fluide	Liquide mobile	Liquide mobile
	Odeur	Fraîche fleurie	Fraîche fleurie	Fortement aromatique	Fortement aromatique
	Couleur	Jaune un peu pâle	Jaune pâle	Blanchâtre	Incolore

L'extraction par hydrodistillation des feuilles des échantillons, d'une durée de 3 heures, a donné une huile essentielle :

- à aspect liquide, de bonne odeur (fraîche fleurie) et de couleur jaune pâle en saison sèche et devient jaune un peu pâle en saison de pluie pour *l'Hélichrysum Faradifani*
- à aspect liquide, de bonne odeur (aromatique) et de couleur incolore en saison sèche et devient blanchâtre en saison de pluie pour le *Cinnamosma madagascariensis*

On peut dire que pour les propriétés organoleptiques de ces deux huiles essentielles, seules leurs couleurs subissent de variation. Le climat semble influencer sur la variation de couleur de ces HE, ceci peut être expliqué par la pousse de jeunes feuilles en saison pluviale [1,33, 34,35].

Analyses physico-chimiques

Nous allons résumer dans les tableaux suivants les caractéristiques physico-chimiques des HE d'*Hélichrysum Faradifani* et *Cinnamosma Madagascariensis*.

a)- HE d'*Hélichrysum Faradifani*

Tableau 2 : Paramètres physico-chimiques de HE *Hélichrysum Faradifani*

Paramètres	Résultats Expérimentaux		Littérature
	HE- 1 (saison de pluies)	HE- 3 (saison sèche)	
Densité relative à 20°C	0.9265	0.9264	[33] ; [37]
Indice de réfraction à 20°C	1.4861	1.4860	1.4680 à 1.5050
Pouvoir rotatoire à 20°C	-45.10°	-45.07°	-30° à -10°
Miscibilité à l'ETOH 90°	≥ 2.5ml : trouble	≥ 2.5ml : trouble	≥ 8 ml : trouble
Indice d'acide	11.22	11.23	19.60
Indice d'ester	84.15	84.15	35.50
Concentration d'inhibition 50% (IC50)	90.50 mg/ml	91.50 mg/ml	-

Les résultats de l'activité microbienne sont représentés dans le tableau suivant.

Tableau 3: Activité microbienne pour HE *Hélichrysum Faradifani*

Souches Test	Diamètre des halos d'inhibition (mm)			
	HE-1	HE-3	Acide nalidixique 30	Acide fusidique 10
<i>Enterobactercloacae</i> ATCC 700123	7	6	12	
<i>Klebsiellaoxytoca</i> ATCC 8724	9	9	17	
<i>Escherichia coli</i>	6	6	18	
<i>Salmonella enteridis</i>	8	8	18	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11632	6	6		25
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13061	8	8		27
<i>Candida albicans</i>	6	6.5		

Les densités relatives des huiles essentielles HE-1 et HE-3 ainsi que celles de la littérature sont inférieures à 1. Ce sont donc des huiles légères. Nous constatons que la valeur moyenne de la densité relative de l'huile essentielle Hélichrysum Faradifani est conforme à celle de HE-1 et HE-3.

Les valeurs de la densité relative en saison de pluie et saison sèche sont voisines. Ce qui nous permet de dire que les saisons n'ont pas d'influence sur la densité des HE étudiées.

Les indices de réfraction de nos huiles essentielles HE-1 et HE-3 sont aussi conforme à la littérature. Ce qui nous permet de confirmer la haute pureté de nos extraits. Les valeurs des indices de réfraction en saison de pluie et saison sèche sont voisines. Les saisons n'ont pas d'influence sur l'indice de réfraction des HE étudiées.

Les pouvoirs rotatoires des huiles essentielles d'Hélichrysum sont tous négatifs, ce qui sous-entend qu'elles sont constituées en grande partie de molécules lévogyres. Nous constatons que les pouvoirs rotatoires des huiles essentielles HE-1 et HE-3 sont très inférieurs à celui de l'huile essentielle HF de la littérature.

Les huiles essentielles HE-1 et HE-3 que nous avons étudiés présentent une valeur de miscibilité inférieure à celle de la littérature.

L'influence de la saison sur l'indice d'acide des huiles extraites n'a pas apparue d'une manière très évidente (11.22 pour HE-1 et 11.22 pour HE-3).

Par contre, les valeurs d'indice d'ester sont largement supérieures à celle de HF de la littérature. Ce qui demande des précautions de pré-raffinage et de conditionnement afin de limiter la décoloration de l'huile, car des HE à indice d'ester élevé peut contenir de quantité appréciable d'acides gras libres.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH indique que les deux huiles essentielles étudiées (HE-1 et HE-3) ont montré une bonne efficacité antioxydante supérieure à celle enregistrée de l'acide ascorbique qui est de 0.3 mg/ml [31]

Pour notre étude on enregistre que toutes les souches exposées montrent une sensibilité plus ou moins importante vis-à-vis des huiles essentielles testées. Les zones d'inhibitions varient entre 6 à 9 mm. Ainsi, en saison sèche et en saison de pluies, la haute activité antimicrobienne des huiles essentielles HE-1 et HE-3 d'*Helichrysum faradifani* obtenues par hydrodistillation contre les bactéries examinées, est présentée par la souche *Klebsiellaoxytoca* ATCC 8724 qui semble sensible avec une zone d'inhibition de 9mm de diamètre. Le reste des souches montre une résistance totale (diamètre inférieur à 8mm).

b)- HE de *Cinnamosma Madagascariensis*

Tableau 4 : Paramètres physico-chimiques d'HE *Cinnamosma Madagascariensis*.

Paramètres	Résultats expérimentaux		Littérature [34], [8], [36]	
	HE-2 (saison de pluies)	HE-4 (saison sèche)	CMA	CMT
Densité relative à 20°C	0.9034	0.9039	0.7859	0.9190
Indice de réfraction à 20°C	1.4733	1.4732	1.4896	1.9190
Pouvoir rotatoire à 20°C	+ 8.78°	+ 8.79°	-	-
Miscibilité à l'ET OH 90°	≥ 6ml : légèrement trouble	≥ 6ml : légèrement trouble	-	-
Indice d'acide	159.91	158.51	-	-
Indice d'ester	66.48	66.61	-	-
Concentration d'inhibition 50% (IC50)	130.5 mg/ml	131.5 mg/ml	-	-

Avec,

CMA : huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis* d'Ambohitantely- au Nord d'Antananarivo.

CMT : huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis* de Tampolo – Région Analanjirofo.

Les résultats de l'activité microbienne sont représentés dans le tableau 5.

Tableau 5 : activité microbienne pour HE *Cinnamosma Madagascariensis*

Souches Test	Diamètre des halos d'inhibition (mm)			
	HE-2	HE-4	Acide nalidixique 30	Acide fusidique 10
<i>Enterobactercloacae</i> ATCC 700123	7.5	7	12	
<i>Klebsiellaoxytoca</i> ATCC 8724	9	9	17	
<i>Escherichia coli</i>	6	6.5	18	
<i>Salmonella enteridis</i>	9	9	18	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 11632	6.5	6.5		25
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13061	9	9		27
<i>Candida albicans</i>	6	6		

Les densités relatives des huiles essentielles HE-2 et HE-4 ainsi que celles de la littérature sont inférieures à 1. Ce sont donc des huiles légères. Nous constatons que l'huile essentielle CMA admet une valeur de densité relative la plus basse.

Les valeurs de la densité relative en saison de pluie et saison sèche sont voisines pour nos huiles essentielles considérées HE-2 et HE-4. Les saisons n'ont pas d'influence sur la densité des HE étudiées.

Les indices de réfraction de nos huiles essentielles HE-2 et HE-4 semblent identiques à ceux de la littérature. Ce qui nous permet de confirmer la haute pureté de nos extraits.

Les valeurs des indices de réfraction en saison de pluie et saison sèche sont voisines pour HE-2 et HE-4. Les saisons n'ont pas d'influence sur l'indice de réfraction des HE étudiées.

Les pouvoirs rotatoires des huiles essentielles de *Cinnamosma Madagascariensis* HE-2 et HE-4 sont positifs, ce qui sous-entend qu'elles sont constituées en grande partie de molécules dextrogyres. La littérature n'a pas mentionné le pouvoir rotatoire de CMA et de CMT.

Les huiles essentielles HE-2 et HE-4 que nous avons étudiés présentent une valeur de miscibilité inférieure à 6ml, au-delà une légère trouble apparait.

Les indices d'acide et d'ester de nos huiles essentielles HE-2 et HE-4 de *Cinnamosma Madagascariensis* sont très élevés. Nous devrions donc prendre beaucoup de précautions pour le conditionnement de nos extraits pour limiter leur dénaturation. De plus, l'influence de la saison sur l'indice d'acide des huiles extraites n'a pas apparue d'une manière très évidente. Nous n'avons pas pu trouver des données bibliographiques sur les indices d'acide et d'ester d'huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis*.

L'évaluation du pouvoir antioxydant qui a été réalisée en utilisant la méthode du piégeage du radical libre DPPH indique que les deux huiles essentielles étudiées ont montrée une bonne efficacité antioxydante supérieure à celle enregistrée de l'acide ascorbique qui est de 0.3 mg/ml [31].

Que ce soit en saison sèche et en saison de pluies, la haute activité des huiles essentielles HE-2 et HE-4 de *Cinnamosma madagascariensis* obtenues par hydrodistillation contre les bactéries examinées, est présentée par les souches *Klebsiella oxytoca* ATCC 8724, *Salmonella enteridis* et *Bacillus cereus* ATCC 13061 qui sont sensibles avec une zone d'inhibition de 9mm de diamètre. Le reste des souches montre encore une résistance totale (diamètre inférieur à 8mm).

Analyses CPG/SM

L'analyse chimique des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse au laboratoire de l'IMRA

Les composés identifiés dans ces huiles essentielles ainsi que leurs abondances relatives sont représentés par ordre de leurs apparitions. L'identification des composants est basée sur la comparaison de leurs spectres de masse avec ceux de la littérature.

Des esters méthyliques d'acide gras déjà connus ont servi d'étalons pour l'identification des constituants de ces huiles essentielles étudiées.

a)- *Hélichrysum Faradifani*

Les éléments majeurs identifiés dans ces huiles essentielles HE-1 et HE-3 d'*Hélichrysum Faradifani* étudiées sont rassemblés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Eléments majeurs identifiés dans les huiles essentielles HE-1 et HE-3 d'*Hélichrysum Faradifani*

N°	Constituants	Valeurs expérimentales		Littérature				
		HE-1 (pluie)	HE-3 (sèche)	Labo IMRA	[46]	[47]	[48]	[8]
1	α -pinène	2.30	2.40	1.50 à 3.00	1.99	1.70	1.62	1.30
2	α-fenchène	40.70	40.10	35.00 à 49.30	38.61	32.30	35.30	27.30
3	limonène	3.00	3.20	3.50 à 7.00	4.17	2.80	4.30	1.90
4	italicène	0.10	0.10	-	-	1.00	-	-
5	linalol	1.90	1.80	1.00 à 2.20	1.44	1.00	2.30	1.20
6	(E)- β -caryophyllène	4.00	6.00	8.00 à 9.10	10.67	14.20	7.20	17.60
7	α -himachalène	0.10	0.20	0.30 à 1.40	-	-	-	-
8	γ -curcumène	0.31	0.30	5.90 à 14.30	15.11	-	-	-
9	β -himachalène	0.30	0.30	tr à 1.80	-	-	-	15.70
10	ar-curcumène	8.80	8.80	0.50 à 3.00	2.74	19.40	-	7.90

Ce tableau montre que l' *α -fenchène (40.40%)*, en moyenne, constitue le composant prédominant des huiles essentielles HE-1 et HE-3 de l'*Helichrysum Faradifani* considérées. Les teneurs en α -pinène et α -fenchène sont en accord avec les valeurs de références du laboratoire de l'IMRA et supérieures à celles de la littérature.

Les huiles essentielles HE-1 et HE-3 contiennent du β -himachalène dont les teneurs sont en accord avec les valeurs de l'IMRA.

Les teneurs en limonène de nos HE sont légèrement inférieures à celles de la littérature et de l'IMRA.

Les huiles essentielles HE-1 et HE-3 que nous avons étudiés contiennent particulièrement des quantités relativement importantes en ar-curcumène (8.80%). Ce qui nous permet de conclure que les huiles essentielles d'*Helichrysum faradifani* HE-1 et HE-3 sont de type α -fenchène/ar-curcumène. Nous constatons également que la teneur en linalol dans nos extraits est relativement importante.

On rencontre aussi dans nos huiles essentielles HE-1 et HE-3, en saison sèche et en saison de pluie, des sesquiterpènes irréguliers comme des sesquiterpènes ayant des squelettes très divers : α -humulène (0,56%) et italicène (0,1%).

Les valeurs des constituants majeurs déterminées sont en général en accord d'une part, aux valeurs de références trouvées dans le laboratoire de l'IMRA et d'autre part avec celles de la littérature. Ce qui nous permet d'affirmer la caractérisation qualitative et quantitative de l'huile essentielle de *Helichrysum Faradifani* obtenue par hydrodistillation avec l'alambic que nous avons élaboré.

L'analyse des échantillons HE-1 et HE-3 d'huile essentielle d'*Helichrysum Faradifani* par CPG/SM a permis l'identification de 37 composés.

b)- *Cinnamosma Madagascariensis*

En plus des huiles essentielles de *Cinnamosma Madagascariensis* HE-2 et HE-4 nous avons également analysé par chromatographie CPG/SM d'autres huiles essentielles de *Cinnamosma Madagascariensis* obtenues à partir des feuilles et écorces et dont l'extraction a été effectuée par hydrodistillation avec l'alambic que nous avons fabriqué. Cette plante a été récoltée en saison de pluies le 08 décembre 2020 dans le site de Tampolo – région d'Analanjirifo – Faritany Toamasina.

Nous avons noté par HE-6 l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles et par HE-8 celle obtenue à partir des écorces pour la plante récoltée en saison de pluies dans le site de Tampolo – région d'Analanjirifo – Faritany Toamasina.

Les éléments majeurs identifiés dans ces huiles essentielles HE-2, HE-4, HE-6 et HE-8 de *Cinnamosma Madagascariensis* étudiées sont rassemblés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Eléments majeurs identifiés dans les huiles essentielles HE-2, HE-4, HE-6, HE-8 de *Cinnamosma Madagascariensis*.

N°	Constituants	Valeurs trouvées (%)				Littérature [41, 8, 42, 43]
		HE-2 (pluie)	HE-4 (sèche)	HE-6 (pluie)	HE-8 écorce (pluie)	
1	α -pinène	1.70	1.90	4.70	4.16	0.09 à 3.80
2	β -pinène	5.00	5.00	6.06	6.25	0.31 à 15.31
3	1,8-cinéole	0.87	0.87	43.25	32.77	0.40 à 46.18
4	limonène	1.40	1.40	1.78	2.11	0.08 à 0.96
5	linalol	60.40	55.80	3.05	14.59	5.14 à 29.45
6	(E)- β -caryophyllène	0.80	1.10	ND	5.01	Tr à 3.05
7	néral	1.12	1.60	ND	ND	0.10 à 1.52
8	géranial	1.60	1.60	ND	ND	Tr à 5.35
9	oxyde de	0.80	0.80	0.7	0.9	7.14 à 36.74

	caryophyllène					
10	Inconnu	14.30	9.00			

ND : Non Déterminé

Le linalol (58.10%), en moyenne, constitue le composant prédominant pour les huiles essentielles des feuilles de *Cinnamosma Madagascariensis* HE-2 et HE-4 pour les deux saisons. Pour ces deux huiles essentielles, les teneurs en linalol sont très supérieures à la littérature, nous pensons alors que ces huiles essentielles de *Cinnamosma madagascariensis* sont de type linalol.

Les huiles essentielles HE-2, HE-4, HE-6 et HE-8 que nous avons étudiés contiennent toutes des quantités en β -pinène, en 1,8-cinéole en accord avec la littérature aussi.

Les teneurs en α -pinène, en (E)- β -caryophyllène, en néral et gèranial sont conformes à celles de la littérature pour les huiles essentielles HE-2 et HE-4. Par contre pour HE-6 et HE-8, ces constituants ne sont pas définis.

Les valeurs des constituants majeurs que nous avons déterminées pour HE-2 et HE-4 sont donc relativement voisines à celles des huiles essentielles de *Cinnamosma Madagascariensis* de la littérature ; de plus, ces deux huiles essentielles sont très riches en linalol dont les propriétés thérapeutiques seront présentées dans la quatrième partie. L'analyse des échantillons HE-2 et HE-4 d'huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis* par CPG/SM a permis l'identification de 30 constituants et un composé inconnu de teneur très élevée.

D'après ces résultats de constituants majeurs, nous pensons que d'autres méthodes chromatographiques s'avèrent nécessaires (GC (RI), NMR. ^{13}C) pour déterminer les composants inconnus qui occupent un certain pourcentage non négligeable afin de bien spécifier les propriétés thérapeutiques ainsi que le référentiel et nom vernaculaire pour nos échantillons HE-2 et HE-4.

Analyses en Composantes Principales (ACP)

Pour notre étude, l'ensemble des données a été traité par une méthode statistique descriptive dont l'Analyse en Composantes Principales (ACP) qui a été effectuée avec le logiciel R-studio.

a) *Hélichrysum Faradifani*

Pour l'HE de *Hélichrysum Faradifani*, nous allons considérer les constituants majoritaires de HE-1 et HE-3 identifiés au laboratoire de l'IMRA.

Les données ont été obtenues en effectuant dix entrées. Elles présentent les:

- 10 individus (noms : numéro des constituants identifiés)
- 06 variables dont une variable qualitative qui est illustrative. On a donc 05 variables actives (sèche pour HE-3, pluie pour HE-1, température de la collecte des feuilles en saison sèche, température de la collecte des feuilles en saison de pluie, altitude de la zone d'étude) et une variable qualitative (constituants).

Les cinq variables qui sont actives dans le jeu de données du logiciel R-studio varient suivant les composantes principales Dim1, Dim2, Dim3, Dim4 et Dim5.

Le jeu de données du logiciel R-studio a donné les résultats dans le tableau 8.

Tableau 8 : Résultats des valeurs propres, de la variance et du cumul de la variance.

Composantes principales	Valeurs propres	Variance (%)	Cumul de la variance (%)
Dim 1	2.00	50.00	50.00
Dim 2	2.00	49.97	99.97
Dim 3	0.00	0.03	100.00
Dim 4	0.00	0.00	100.00

Dim 5	0.00	0.00	100.00
-------	------	------	--------

Si nous considérons les deux premiers axes principaux :

- L'axe Dim 1 renseigne sur 50% de l'information totale.
- La deuxième composante principale explique 49.97%.

La combinaison linéaire des deux premières composantes principales montre 99.97% de l'information, ce qui est assez élevé pour bien représenter les variables.

Les axes principaux considérés sont donc Dim1 et Dim2.

Le logiciel R-studio permet de présenter le cercle de corrélation des variables pour les huiles essentielles d'*Hélichrysum Faradifani* ainsi que la graphique des observations en saison de pluie et saison sèche.

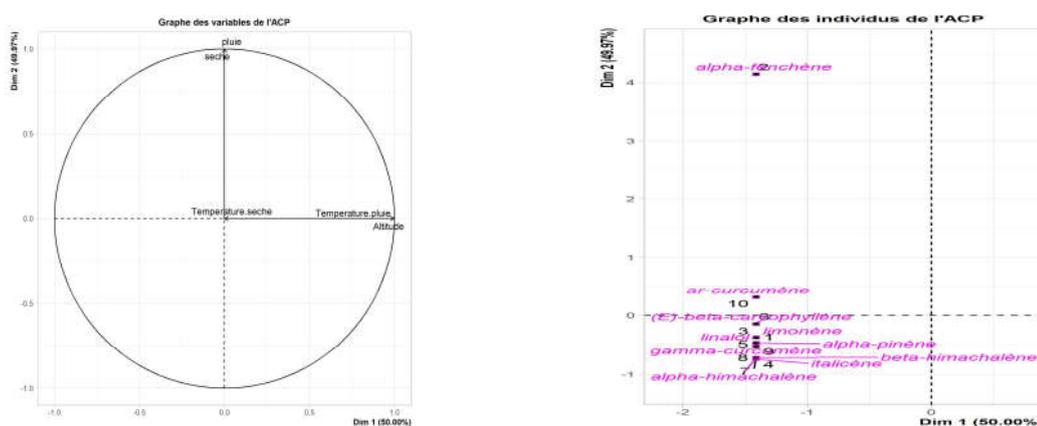


Figure 4-A: Cercle des corrélations et Figure 4-B :Graphe des individus des constituants de l'huile essentielle d'*Hélichrysum Faradifani*

Nous pouvons donc apporter la conclusion suivante que l'ACP révèle la ressemblance qualitative des constituants de l'huile essentielle d'*Hélichrysum Faradifani* récoltée en saisons sèche et de pluie riche en α -fenchène.

b) *Cinnamosma Madagascariensis*

Pour le *Cinnamosma Madagascariensis*, nous avons effectué l'étude en ACP pour les huiles essentielles HE-2 et HE-4 seulement à cause de plusieurs valeurs non définies des constituants de HE-6 et HE-8 (voir tableau n°7).

Pour l'HE de *Cinnamosma Madagascariensis* de la forêt de Lakato – Moramanga – Faritany Toamasina,, nous allons donc considérer les constituants majoritaires identifiés au laboratoire de l'IMRA.

Les données ont été obtenues en effectuant neuf entrées. Elles présentent les:

- 09 individus (names : numéro des constituants identifiés)
- 06 variables dont une variable qualitative qui est illustrative. On donc 05 variables actives (sèche pour HE-4, pluie pour HE-2, température de la collecte des feuilles en saison sèche, température de la collecte des feuilles en saison de pluie, altitude de la zone d'étude) et une variable qualitative (constituants).

Les cinq variables qui sont actives dans le jeu de données du logiciel R-studio varient suivant les composantes principales Dim1, Dim2, Dim3, Dim4 et Dim5.

Le jeu de données du logiciel R-studio a donné les résultats du tableau 9.

Tableau 9 : Résultats des valeurs propres, de la variance et du cumul de la variance

<i>Composantes principales</i>	<i>Valeurs propres</i>	<i>Variance (%)</i>	<i>Cumul de la variance (%)</i>
Dim 1	2.00	66.55	66.55
Dim 2	1.00	33.33	99.88
Dim 3	0.00	0.11	100.00
Dim 4	0.00	0.00	100.00
Dim 5	0.00	0.00	100.00

Si nous considérons les deux premiers axes principaux :

- L'axe Dim 1 renseigne sur 66.55% de l'information totale.
- La deuxième composante principale explique 33.33%.

La combinaison linéaire des deux premières composantes principales montre 99.88% de l'information, ce qui est assez élevé pour bien représenter les variables.

Le logiciel R-studio permet de présenter le cercle de corrélation des variables ainsi que la graphique des observations pour les huiles essentielles de *Cinnamosma Madagascariensis*.

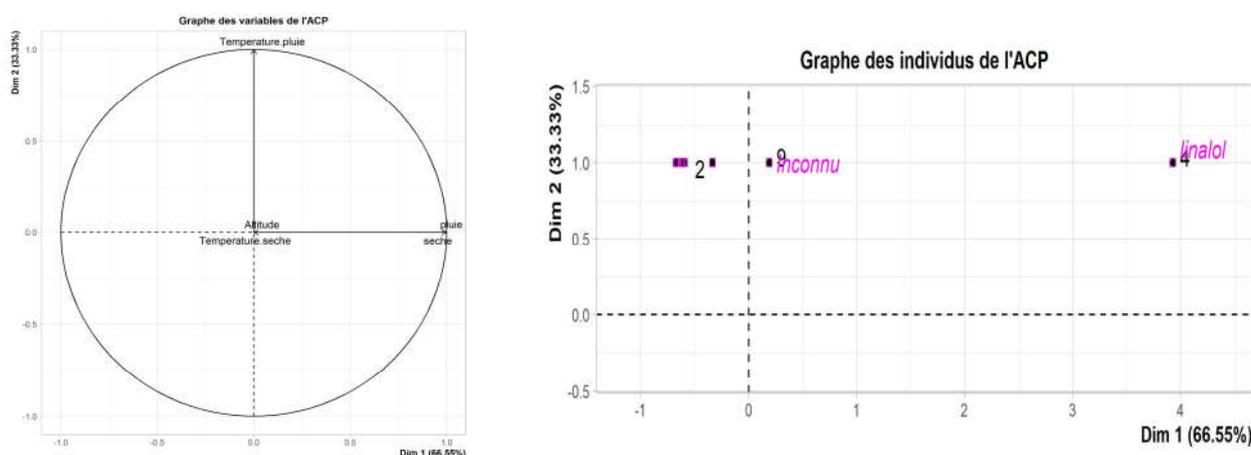


Figure 5-A : cercle des corrélations et Figure 5-B : Graphe des individus des constituants de l'huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis*.

En conclusion, l'ACP révèle la ressemblance qualitative des constituants de l'huile essentielle de *Cinnamosma Madagascariensis* récoltée en saisons sèche et de pluie très riche en linalol.

Propriétés thérapeutiques des constituants des huiles essentielles

Dans ce paragraphe, nous allons regrouper dans le tableau suivant les propriétés thérapeutiques des constituants majoritaires des huiles essentielles d'*Hélichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis* que nous avons étudiées.

Tableau 10 -Propriétés thérapeutiques des constituants majoritaires des huiles essentielles
d'*Hélichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis*.

Constituants	Propriétés thérapeutiques	Huiles essentielles
α - pinène	C'est une molécule efficace pour le traitement des affections respiratoires (rhume, toux, bronchite) : Antibactérienne, Antifongique, Antivirale, Antiseptique, Anti-oedemateuse, Expectorante	<ul style="list-style-type: none"> • Niaouli : 8 à 12% • Hélichrysum faradifani : 2.35% • Cinnamosma Madagascariensis : 1.80%
β -pinène	Expectorant et mucolytique, Antiviral (Herpes), Antifongique, Biotransformation	<ul style="list-style-type: none"> • Niaouli : 3.5% • Cinnamosma Madagascariensis: 5%
Limonène	Antiseptique ,Antivirale, Sédatif, Antibactérien et antifongique, Anti-tumoral, Antidépresseur et anxiolytique, Bronchodilatateur Le limonène est présent principalement dans la peau des citrons et autres agrumes.	<ul style="list-style-type: none"> • Niaouli : 4 à 8% • Hélichrysum faradifani : 3.10% • Cinnamosma Madagascariensis : 1.40%
α -fenchène	Anti-infectieux fort, Agit contre les infections urinaires et les cystites, Rééquilibre le fonctionnement des reins en cas d'insuffisance rénale	<ul style="list-style-type: none"> • Hélichrysum faradifani : 40.40%
(E) - β -caryophyllène	Activités anticancéreuses importantes, Actions cardioprotectrices, hépatoprotectrices, gastroprotectrices, neuroprotectrices, néphroprotectrices, Anti-inflammatoires et immunomodulatrices.	<ul style="list-style-type: none"> • Niaouli : 1 à 2% • Ylang-Ylang : 5 % • Hélichrysum faradifani : 5% • Cinnamosma Madagascariensis : 0.95%
α -himachalène	Antiseptique, Insecticide, Antifongique, Anti-inflammatoire	<ul style="list-style-type: none"> • cèdre de l'Himalya : 17.1% • Hélichrysum faradifani : 0.15%
β -himachalène		<ul style="list-style-type: none"> • cèdre de l'Himalya : 38.3% • Hélichrysum faradifani : 0.30%
γ -curcumène	Antiseptique, Bactéricide, Antihistaminique	<ul style="list-style-type: none"> • Hélichrysum italiène ou immortelle : 8 à 12% • Hélichrysum faradifani : 0.30%
α -curcumène	Antifongique, Inhibe la croissance des cellules du cancer ovarien, Utilisé en parfumerie pour son odeur florale de cyclamen	<ul style="list-style-type: none"> • Hélichrysum italiène ou immortelle : 8 à 12% • Hélichrysum faradifani : 8.80%
Linalol	Anti-infectieux, Renforce le système immunitaire, Indiqué dans toutes les pathologies bactériennes, virales et fongiques, Neurotoniques	<ul style="list-style-type: none"> • Bois de rose : 70 à 90% • Ylang-Ylang : 5 à 7% % • Hélichrysum faradifani : 1.85% • Cinnamosma Madagascariensis : 58.10%
Néral	Puissants anti-inflammatoire, Antalgiques (utilisée dans les pathologies rhumatismales, articulaires et tendineuses), Calmants et sédatifs	<ul style="list-style-type: none"> • Gingembre : 2 à 20% • Cinnamosma Madagascariensis : 1.36%
Géranial		<ul style="list-style-type: none"> • Gingembre : 2 à 20% • Cinnamosma Madagascariensis : 1.60%

5-CONCLUSION

Ce travail, réalisé en collaboration avec l'équipe l'INGE et IMRA, s'inscrit dans le cadre de la valorisation de leurs huiles essentielles par l'intermédiaire d'une éventuelle base de données pouvant se servir de référentiel scientifique. Les échantillons de feuilles sont soumis à l'hydrodistillation pendant trois heures via un alambic automatisé que nous avons élaboré. Les échantillons d'huiles essentielles obtenus sont ensuite soumis à des études physico-chimiques, puis par analyse chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG/SM). Les données chimiques obtenues ont été traitées par analyse statistique : ACP (analyse en composantes principales).

L'extraction par hydrodistillation des feuilles d'*Helichrysum Faradifani* et de *Cinnamosma Madagascariensis* a donné des huiles essentielles à aspect liquide et de bonne odeur, dont les rendements respectifs 0.72% et 0.55% sont meilleurs que ceux de la littérature (0.1 à 0.53%). Ce qui témoigne la fiabilité de l'alambic automatisé que nous avons élaboré.

Les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles d'*Helichrysum faradifani* de Tsimivadidrazana, Commune d'Ikalalao, Sous-Préfecture d'Ambohimahaso, Région Haute Matsiatra sont de type α -fenchène/ar-curcumèn. Les huiles essentielles obtenues à partir des feuilles de *Cinnamosma Madagascariensis* de la forêt de Lakato – Moramanga – Faritany Toamasina sont de type linalol (58.10%) tandis que pour le site de Tampolo – région d'Analanjirifo – Faritany Toamasina c'est de type cinéole (43.25% à partir des feuilles et 32.77% à partir des écorces). Ce qui nous a amené à conclure que les molécules dominantes dans les huiles essentielles dépendent donc particulièrement de la zone où se trouvent les plantes. Les résultats de l'ACP sont conformes qualitativement à ceux du CGP/SM. Les propriétés thérapeutiques ont été présentées afin de satisfaire les attentes des usagers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1-Franchomme P., Pénéol D.(1990). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois (2001).455p.
- 2- Laurent Julia. «Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courants en officine». Th-se pour l'obtention du diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Faculté des Sciences pharmaceutique – Université Paul Sbatier Toulouse III. Année 2017.
- 3-Keefover-Ring K., Tompson J.D., Linhart Y.B. «beyond six scents: defining a seventh thymus vulgaris chemotype new to southern France by ethanol extraction». Flavour and fragrance journal, 24 :117-122,(2009).
- 4- Faucon M. Traité d'aromathérapie scientifique et médicinale. Sang de la terre (2012).880p.
- 5- EDBM (Economic Development Board of Madagascar). Huiles essentielles : une richesse unique au monde. (24 juin 2020)
- 6- Rakotondrainiarivelo J.P., 2011, Contribution à l'étude de *Helichrysum faradifani* Scot.Ell. (Asteracea). 1 Huile essentielle 2. Microorganismes associés, mémoire pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) en chimie organique – option : produits naturels, Université d'Antananarivo – Faculté des Sciences – Département de Chimie Organique, 97 pages.
- 7- Cavalli J.C., Ranarivelo L., Ratsimbason M., Bernardini A.F., Casanova J., 2001, Constituents of the essential oil of six *Helichrysum* species from Madagascar, Flavour and Fragrance Journal, 16, 253-256
- 8-Rabelohataona T.N.(2007) Contribution à l'étude de l'effet saison sur la composition chimique des huiles essentielles de *cinnamosmafragrans* et *cinnamosma madagascariensis*. Mémoire de fin d'études d'Ingénieur. ESSAgronomique. Département Industries Agricoles et Alimentaires : 90 p.
- 9-Rasoamanana Tolotra Tahiana. Etude, conception et réalisation d'un distillateur d'alcool artisanal. 23 mars 2003. ESPA. Mémoire de fin d'étude. Département génie chimique. 3- 9p.
- 10-Randrianasolo Josefarinaivo Arivolamananoro Andriatsilanina. Conception et réalisation d'un distillateur solaire simple à l'effet de serre en vue de la production d'eau potable à Madagascar. 26 sept 2017. ESPA et UFR. Sciences Economiques et de Gestion de Bordeaux.31p.
- 11-Bruneton J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Edition Technique et documentation, 3^{ème} Edition Lavoisier, Paris.1120.
- 12-Nabil Bousbia. (2011) Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Sciences de L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'Alger Spécialité : Chimie
- 13- Arnold N., (1985), Contribution à la connaissance ethnobotanique et médicinale de la flore de Chypre., Université René Descartes de Paris, 3, pp.1203 – 1210.
- 14-Bousbia N., Vian M.A., Ferhat M.A., Meklati B.Y., Chemat F. A new process for extraction of essential oil from citrus peels: Microwave Hydrodiffusion and Gravity. J of Food Engineering 90(2009)409 -413.
- 15-Baker, G.R., R.F. Lowe et I.A. Southwell.(2000). Comparison of oil recovered from tea by ethanol extraction and steam distillation. Journal of agricultural Food chemistry. 48: 4041 – 4043.
- 16- Théron E., Holeman H., Potin-Gautier M. (1994). Authentification of *Ravensara aromatica* and *Ravensaraanisata*. Planton Med 60: 489 – 491.
- 17-Garnero P. (1996). Huiles essentielles. In techniques de l'Ingénieur. Paris. K345
- 18- Rakotovoahangy Mahandrihasina Hery. La distillation par Détente Instantanée Contrôlée. 16 juillet 2005. ESPA. Mémoire de fin d'études. Département Génie mécanique et productive et Département Génie électrique. 17p.

- 19- Charai m., Mosaddak M., and Faid M., (1996), chemical composition and antimicrobial activities of two aromatic plants: *origanummajorana* L. And *O. Compactum*Benth., *J. Essent. OilRes.*, 8,pp.1203 – 1210.
- 20- Marcel Caude, Alain Jardy. Méthodes chromatographiques. 10 avril 1996.
- 21-Awad, P.; Athès, V.; Decloux, M. E.; Ferrari, G.; Snakkers, G.; Raguenaud, P.; Giampaoli, P. Evolution of Volatile Compounds during the Distillation of Cognac Spirit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2017, 65 (35), 7736–7748.
- 22-Hajji S., Beliveau J., Simon D. Comparative study of an essential oil obtained according to two different extraction procedures: steam distillation and hydrodiffusion. *Actes-Colloq. Int. Plant.Aromat. Med. Maroc*, 1985;229-230
- 23- Seegert (B.), Thèse, Berlin, 1908. Cité par J.Vincent-Geisse et J. Dayet, Réflexion et transmission à la surface d'un milieu absorbant – Application à l'étude critique de la méthode du réfractomètre d'ABBE pour la détermination des indices de refraction. *Le journal de physique* Tome 26, Février 1965, p66 – 74.
- 24- Véret C. (2000). Réfractométrie et interférométrie en analyse et caractérisation. P500 – 1.
- 25- Krüss Optronic (en) “Refractometers”, Version 1.0, Hamburg, June 2012 (archive)
- 26- KarouD., Dicko M.H., Simpore J., Yameogo S., Sanon S., Traore A.. Génération and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts : a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* ; 2005 ; 106 : 119 – 133.
- 27- Shirin Moradkhani. Comparison of antioxidant and free radical scavenging activities of the essential oils from flowers and fruits of *Otostegia persica* Boiss. *Pakistan Journal of Biological Sciences* – 2007.
- 28- Vansant, G. Radicaux libres et antioxydants: principes de base. Symposium “Antioxydants et alimentation”. Institut Danone. 2004.
- 29- De Billerbeck, V.G. (2007). Essential oils and antibiotic-resistant bacteria. *Phytothérapie* 5(5), 249 – 253.
- 30- Lahlou, M. (2004 a). Essential oil and fragrance compounds : bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 159 – 165.
- 31- Hermal, C. (1993). Activité bactériostatique de 7 émulsions d'huile essentielle et de 2 associations d'émulsions d'huile essentielle., Faculté de Pharmacie : Université de Montpellier.
- 32- Mann, C.M., Markham, J.L.(1998). A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of Applied Microbiology*, 84, 538 – 544.
- 33-Teisserie E.P.J (1991) Chimie des substances odorantes. Lavoisier, Tec et Doc. Paris : 480p
- 34-Rasendra H.P. (1994). Contribution à l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de feuilles de *Cinnamosma madagascariensis*. Mémoire de DEA de Chimie Organique, Option Produits Naturels, Faculté des Sciences, Université d'Antananarivo. 120p.
- 35-Randriamiharison Philipposon Robert, 1995. Manuel rapide et utile pour producteurs d'huiles essentielles. Pour le compte de ABT/Associates. Projet MAELSP – USAID.
- 36- Onyeike EN, Acheru GN. (2002). Chemical composition of selected Nigerian oil seeds and physico chemical properties of the oil extract. *Food Chem.*, 77 : 431 – 437.
- 37-Randriarivony John SyllieNoela (2017). Contribution à la préparation de monographie des huiles essentielles de Madagascar : cas de *Ocotea macrocarpa*, *Cinnamomum camphora* L., *Helichrysum gymnocephalum*, *helichrysum bracteiferum* et *Helichrysum faradifani*. Mémoire de fin d'études d'Ingénieur. ESSAgronomique. Département Industries Agricoles et Alimentaires
- 38- Cavalli J.C., Tomi F., Bernardini A.F., Casanova J., 2004, Chemical variability of the essential oil of *Helichrysum faradifani* Sc. Ell. from Madagascar, *Flavour and Fragrance Journal*, 21, 111–114.

- 39-Guerfa Tarek, Merah Mohamed et Hadi. Extraction de l'huile de l'espèce végétale heritacheirifolial.par hydro distillation : caractéristiques physico- chimique et modélisation paramétriques .2018. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de master en génie chimique à l'Université Arbi Ben M'Hidioum EL BouagHi.département de Génie des procédés.
- 40- Ralijerson L., Rabehaja R.D.J., Rajaonarison J.F., Ratsimamanga S.U., Herent J.M.,Mavar-Manga H., Tilquin B., 2005, Comparison between the fresh and dry essential oil of *Helichrysum faradifani* Scott Elliot from Madagascar, *Journal of Essential Oil Research*, 17, 597-600 pages
- 41- Razanamparany L.A.(2005). Etude prospective des essences aromatiques de la forêt de Tsianimpihy – Antsalova. Mémoire de fin d'études. Département Industries Agricoles et Alimentaires, ESSA. Université d'Antananarivo.
- 42- Razafimamonjison Dina Emile Nicolas Gaylor (2011) Variabilités chimiques et activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *Cinnamosma* spp. (Alternative aux antibiotiques en aquaculture de crevette). THESE pour l'obtention du diplôme de Doctorat Option Industries Agricoles et Alimentaires Ecole Supérieure des Sciences Agronomiques. Université d'Antananarivo
- 43- Harinantenaina L., Katsuyoshi M., Hideaki O., Masatoshi K., Kentaro Y.; Yoshinori A. (2008) Secondary metabolites of *Cinnamosma madagascariensis* and their alphasglucosidase inhibitory properties. *J. Nat. Prod.* 71 : 123 - 126
- 44-Diday E., Lemaire J., Pouget J.; 1985; *Eléments d'analyses des données*; Dunod; Paris; 464p.
- 45- Ollier C. *Aromathérapie - Le bon usage*. Le moniteur du Pharmacien, cahier II n°2767; 2009.
- 46-Raynaud J. *Prescription et conseil en AROMATHERAPIE*. Editions TEC & DOC - EM inter - Lavoisier; 2006.
- 47- Festy D. *Ma bible des huiles essentielles - Guide complet d'aromathérapie*. Quotidien matin. 2004.
- 48-. Da Silva F. Thèse: *Utilisation des huiles essentielles en infections ORL*. Université de Lorraine; 2010.

REFERENCE SITOGRAPHIQUE

[w -1]- Huile essentielle d'anis étoile bio (*illiciumverum*). <https://www.aroma-zen.com>, consulté le 05/01/2019.