



HAL
open science

Etude comparative d'extraction de l'huile essentielle d'Ylang-Ylang

Magdalena Kristiawan, Vaclav Sobolik, Karim Allaf

► **To cite this version:**

Magdalena Kristiawan, Vaclav Sobolik, Karim Allaf. Etude comparative d'extraction de l'huile essentielle d'Ylang-Ylang. 16. rencontres Agoral Nantes, Ecole Nationale d'Ingénieurs des Techniques des Industries Agricoles et Alimentaires (ENITIAA). Nantes, FRA. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA)., Nov 2004, Nantes, France. 401 p. hal-02764128

HAL Id: hal-02764128

<https://hal.inrae.fr/hal-02764128v1>

Submitted on 4 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

ETUDE COMPARATIVE D'EXTRACTION DE L'HUILE ESSENTIELLE D'YLANG-YLANG

Magdalena Kristiawan*, V. Sobolik, K. Allaf
LMTAI-Université de La Rochelle - Avenue M. Crépeau - 17042 LA ROCHELLE

ABSTRACT

A partially dehydrated Java Ylang-Ylang flowers were treated by the Instantaneous Controlled Pressure Drop (DIC) process, which involves subjecting for a short period of time to a steam pressure (4.5 bar), followed by an abrupt pressure drop into vacuum (about 50 mbar). This abrupt pressure drop provokes auto vaporization of the volatile compounds, modifies the internal structure and eventually implies the destruction of cell walls, which enhance the internal diffusion. We extracted by solvent the residual essential oil from flowers after DIC process, mainly for quantifying the DIC effect. In view of a comparative study, the quantitative and qualitative chemical analyses by GC/MS were undertaken on the both DIC extracted and residual essential oils.

RESUME

Des fleurs d'Ylang-Ylang originaire de Java partiellement déshydratées ont été soumises au traitement par Détente Instantanée Contrôlée (DIC); il s'agit d'effectuer une détente abrupte vers le vide (~50 mbar) à la suite d'un traitement thermique sous une pression de vapeur d'eau (4.5 bar) pendant un temps relativement court. La chute abrupte de pression provoque alors l'autovaporisation instantanée des composés volatils, modifie la structure et implique l'éclatement éventuel de parois cellulaires ce qui facilite la diffusion interne. L'huile essentielle résiduelle est alors extraite par solvant organique à partir des fleurs traitées par DIC, afin d'évaluer l'efficacité du traitement par DIC. En vue de la réalisation d'une bonne étude comparative, des analyses chimiques qualitatives et quantitatives par CPG/SM ont été entreprises sur l'huile essentielle extraite par DIC ainsi que sur l'huile essentielle résiduelle.

MOTS DE CLE : Ylang-Ylang, huile essentielle, extraction, DIC, propriété olfactive.

1. INTRODUCTION

La fleur d'Ylang-Ylang (*Cananga odorata Hook F. et Thomson*, forma macrophylla, d'origine javanaise) est une matière primaire de première importance en raison des diverses utilisations de son huile essentielle en parfumerie mais également dans diverses autres applications de type alimentaire en tant qu'aromatisant des glaces, des bonbons et thérapeutique (hypertension artérielle, palpitations, dermatologie, impuissance, douleurs, antiseptique et antibactérienne), mais également dans le domaine cosmétique et de la beauté [Buccelatto (1982); Colgate (2003); Lee (2002); Valnet (1990)]. Son odeur est très complexe et particulièrement riche ; on y distingue des notes florale, épicée, balsamique, fruitée et médicinale [Buccelatto (1982)].

L'obtention de cette huile par entraînement à la vapeur reste une industrie typiquement artisanale, réalisée généralement en des dizaines d'heures. L'extraction par solvant organique n'est en effet utilisée qu'à de très faibles échelles. La méthode d'extraction par entraînement à la vapeur souffre de plusieurs inconvénients. En plus des problèmes propres à la durée

particulièrement importante de l'opération et à la forte consommation d'énergie, notons l'énorme dégradation thermique liée aux modifications chimiques irréversibles des composants de l'huile. En revanche, bien que l'utilisation de solvants implique inévitablement des étapes de séparation de solvant et mène ainsi à un produit relativement pur, la présence de traces de solvants reste en contradiction avec les normes de qualité de plus en plus contraignantes des pays développés.

Ces difficultés ont mené à la considération de l'utilisation des fluides à l'état supercritique dans les procédés d'extraction des huiles essentielles. En effet, l'utilisation du CO₂ à l'état supercritique permettrait d'obtenir une haute qualité de l'extrait, mais à coût trop élevé du fait des conditions technologiques (~100 bar) requises pour l'utilisation de ce procédé [Gaspar et al (2001)].

En raison de l'importance économique de cette fleur, tout particulièrement en Indonésie, et afin de répondre aux exigences sans cesse croissantes des consommateurs, nous avons mené une étude visant la définition, l'optimisation et la réalisation à l'échelle industrielle d'un procédé innovant applicable au cas d'Ylang-ylang. Ce procédé de **Détente Instantanée Contrôlée (DIC)**, est fondé sur le processus d'autovaporisation instantanée des systèmes thermodynamiques complexes [Allaf et al (1998)]. L'autovaporisation du liquide complexe (eau + composés volatiles) est provoquée par passage abrupt donc très rapide du système vers un niveau de faible pression voisine de 50 mbar, à partir d'un état initial de haute pression de vapeur (quelques bars) et de température nettement supérieure à celle de l'équilibre final. La détente DIC caractérisée par un taux d'évolution $\Delta P/\Delta t$ supérieur à 2.10^5 Pa.s^{-1} , permet un certain éclatement des parois cellulaires et la libération des composés non entraînés par la vapeur d'eau ; elle est étroitement couplée à un refroidissement et un arrêt aussi rapide des réactions de dégradation thermique. Ce procédé a permis d'aboutir à un produit fini de haute qualité (exempte de toute trace de solvant et de toute dégradation thermique) ; la cinétique de l'opération est très intéressante (20 minutes contre quelques heures voire deux jours pour les méthodes classiques) ce qui induit un coût de fabrication particulièrement intéressant [Rezzoug et al (2000)].

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Matière première

Les fleurs d'Ylang-Ylang sont récoltées dans la région de Lawang dans la Province de Java en Indonésie, séchées puis stockées à la température ambiante jusqu'au traitement. Le teneur en eau des fleurs après séchage est de 10,4 g/100 g de matière sèche.

2.2. Traitement matériel et protocole opératoire

2.2.1. La Détente Instantanée Contrôlée (DIC)

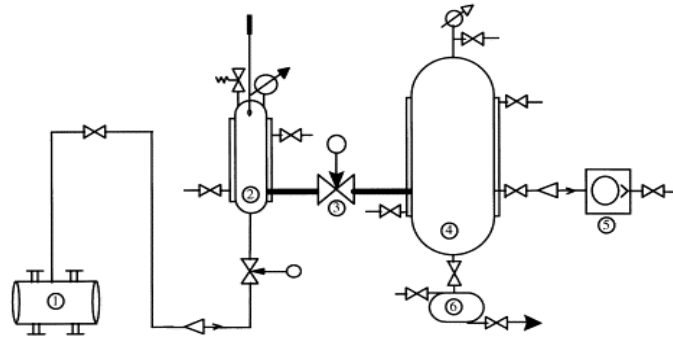


Figure 1: Schéma de principe du réacteur DIC utilisé dans traitement des fleurs d'Ylang-Ylang en vue de l'extraction de l'huile essentielle (1 : chaudière ; 2 : chambre de traitement DIC ; 3 : vanne de détente ; 4 : réservoir sous vide ; 5 : pompe à vide ; 6 : zone de récupération des condensats)

Le traitement débute par la préparation de la matière première; il s'agit d'une humidification partielle des fleurs d'Ylang-Ylang préalablement séchées, en vue d'aboutir à des niveaux désirés de teneur en eau. Tous ces échantillons sont ensuite conservés à 4°C dans un emballage étanche pendant 12 heures afin de s'assurer d'une bonne homogénéité de l'eau au sein des fleurs. Chaque échantillon (environ 20 g de fleurs) subit alors le traitement DIC (Figure 1) dont la première étape consiste à instaurer un vide primaire (~50 mbar) avant que les fleurs n'y subissent un chauffage par injection de vapeur d'eau sous pression suivie d'une détente abrupte vers vide. Cette dernière étape est effectuée par connexion de la chambre de traitement (2) au réservoir à vide (4) par ouverture de la vanne de détente (3).

La première mise sous vide permet d'assurer un contact plus intime entre la vapeur et la matière ; le transfert ultérieur de chaleur entre le fluide caloporteur (vapeur) et les fleurs est par conséquent amélioré. Après fermeture de la vanne de détente, le réacteur est mis sous pression et sous haute température par injection de vapeur saturée. La pression de consigne est maintenue constante pendant la durée de traitement fixée. L'instauration du vide par détente est établie d'une façon quasi-instantanée ($\tau=0,2$ s). Le niveau initial de la pression dans le réservoir à vide a été maintenu à 15 mbar dans toutes les expériences. La pression finale d'équilibre est d'autant plus haute que la pression initiale de traitement est plus élevée. La température finale dépend étroitement de la pression finale indiquée. Après instauration de la pression atmosphérique, les extraits condensés et l'échantillon solide peuvent être récupérés et les fleurs analysées.

En vue d'une étude comparative, les analyses chimiques qualitatives et quantitatives par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse CPG/SM sont entreprises sur la partie extraite de l'huile essentielle et celle résiduelle. Cette dernière est extraite par solvant organique selon la technique de Randall appliquée aux échantillons de fleurs différemment traités par DIC afin d'évaluer l'efficacité du procédé et d'en optimiser les conditions opératoires.

2.2.2. Extraction selon la technique de Randall

Le traitement consiste à disposer de 4 g de fleur d'Ylang-Ylang dans une quantité de 80 ml de solvant maintenu à son point d'ébullition [Cai et al (2002)], en utilisant le Velp Scientifica SER 148.

2.2.3. Caractérisation de l'huile essentielle par CPG-SM

Le chromatographe utilisé, couplé au spectromètre de masse, est de type Varian GC 3900. Les échantillons sont introduits par l'intermédiaire d'un injecteur "split" avec un ratio de 1 / 100 et un volume injecté de 1 µL. La colonne utilisée est de type capillaire en silice fondue recouverte d'une phase stationnaire apolaire du type CP-Sil 8 CB (le poly diméthylsiloxane) de 30 m de long, de 0,25 mm de diamètre intérieur et 0,25 µm d'épaisseur de film de phase stationnaire. La température du four passe de 50 à 250 °C à raison de 2 °C.min⁻¹. La température de l'injecteur est fixée à 250 °C.

Le spectromètre de masse est un appareil Varian de type Saturn 2100T, à trappe d'ions en impact électronique à 70 eV, avec un balayage de 30 à 400 uma. Les températures de la source et de l'interface sont fixées respectivement à 220 °C et 280 °C. La température de la détection par ionisation de flamme (FID) est fixée à 250 °C. L'identification est confirmée par la comparaison des spectres de masse obtenus avec ceux de la base de données de MS (« VARIAN NIST MS Database 1998 » et « Saturn librairies »). La quantification relative du mélange en composés est obtenues (en %) par intégration d'aire des pics de la chromatographie.

2.2.4. Conditions opératoires de la DIC

Les conditions opératoires adoptées dans cette étape de la présente étude de DIC sont rassemblées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Conditions opératoires de traitement du DIC

Variables	DIC I	DIC II
Pression P (bar)	4,5	4,5
Teneur en eau W (g H ₂ O/ 100 g ms)	10,4	23,8
Temps t (min)	1 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30	1 ; 5 ; 10 ; 20 ; 30

3. RESULTAT ET DISCUSSION

3.1. Choix du solvant dans l'analyse des produits solides résiduels

L'extraction par solvant a pour objectif de réaliser une mesure quantitative des divers composés chimiques (légers et lourds) résiduels dans la partie solide en vue d'optimiser le protocole du traitement DIC. Dans le but d'utiliser le solvant le plus adéquat à l'opération, nous avons choisi deux solvants avec une polarité différente, le chloroforme (solvant polaire) et l'hexane (solvant peu polaire). Les résultats obtenus sur la matière première sont comparés en fonction du temps d'extraction (voir le Tableau 2). Cette étude a été réalisée en regroupant l'extrait d'Ylang-Ylang obtenu en quatre classes de composés : les composés oxygénés légers (LOC), les composés oxygénés lourds (HOC), les sesquiterpènes (S) et les monoterpènes (M), qui donnent les propriétés olfactives de l'huile.

Tableau 2. Evolution des classes de propriété olfactive au cours de l'extraction directe par solvant

Propriété Olfactive	Extraction directe par solvant							
	Chloroforme (% d'aire du pic)				Hexane (% d'aire du pic)			
	1 heure	2 heures	4 heures	6 heures	1 heure	2 heures	4 heures	6 heures
M	0,172	0,134	0,099	0,089	0,115	0,105	0,125	0,111
LOC	3,186	3,133	2,959	3,09	2,332	2,612	2,415	2,645
HOC	8,169	9,184	9,483	9,33	9,436	10,276	9,813	10,355
S	31,682	36,668	35,936	33,969	38,773	39,963	40,363	41,525

Nous avons constaté que, quel que soit le solvant utilisé (chloroforme ou hexane), la quantité globale extraite en 2 heures (temps optimum d'extraction) est identique. L'extraction par hexane est cependant plus sélective et plus efficace pour les sesquiterpènes. La concentration en monoterpènes et en composés oxygénés lourds des deux extraits respectivement par l'hexane et le chloroforme est comparable ; cependant, l'extrait par chloroforme est plus riche en composés oxygénés légers. Les composés oxygénés sont très odoriférants et contribuent à la fragrance de l'huile dans une extension majeure, sont donc les plus appréciés. Nous avons donc retenu l'extraction pendant 2 heures par chloroforme comme méthode d'analyse dans la présente étude comparative quantitative.

Tableau 3. Composition d'extrait obtenu par extraction au chloroforme pendant 2 heures

N°	Type	Composés	%
1	LOC	Benzaldéhyde*	0,102
2	M	β -Pinène*	0,06
3	LOC	Ether méthylique de p crésyle*	0,042
4	LOC	Alcool benzylique*	0,465
5	M	α -Pinène*	0,02
6	M	p-Crésol*	0,054
7	LOC	Benzoate de méthyle*	0,008
8	LOC	β -Linalol*	1,034
9	LOC	Nonanal*	0,086
10	LOC	Acétate de benzyle*	0,032
11	LOC	Trans-Géranol*	0,562
12	LOC	Géranial*	0,049
13	S	γ -Elémène	0,152
14	S	δ -Elémène	0,109
15	S	α -Cubébène	0,081
16	LOC	Eugénol*	0,323
17	S	Ylangène	0,029
18	S	α -Copaène	0,953
19	LOC	Acétate de géranyle*	0,383
20	S	β -Cubébène	0,532
21	S	β -Elémène	0,503
22	LOC	Méthyl eugénol*	0,047
23	S	β -Caryophyllène*	23,923

24	S	Germacrène D	1,096
25	S	α -Guaiène	0,329
26	S	epsilon-Muuroène	0,599
27	S	α -Caryophyllène*	6,131
28	S	γ -Muuroène	17,115
29	S	Isocaryophyllène*	3,787
30	S	α -Farnésène*	2,801
31	S	γ -Cadinène	0,125
32	S	β -Cadinène	1,076
N°	Type	Composés	%
33	S	Calamenène + δ -Cadinène	0,283
34	S	α -Muuroène	0,142
35	S	Cadala-1 (10), 3,8-triène	0,025
36	HOC	Elemol	0,113
37	HOC	Benzoate de 3-hexen-1-ol*	0,044
38	HOC	Nerolidol*	0,554
39	HOC	α -Bisabolol*	1,299
40	HOC	Aromadendrène oxide - (2)	0,121
41	S	(-)-Caryophyllène -(II)*	0,026
42	HOC	Méthoxy eugénol*	0,026
43	HOC	Isoaromadendrène époxyde	0,025
44	HOC	+diepi-alpha cedrène époxyde*	0,386
45	S	Aromadendrène, dehydro	0,132
46	HOC	Humulène-1, 6-dien-3-ol	0,044
47	HOC	Cubénol	0,056
48	HOC	Spathulenol*	0,161
49	S	Junipen	0,2
50	HOC	Caryophyllène oxide*	0,176
51	HOC	tau-Cadinol	0,087
52	HOC	α -Cadinol	0,024
53	HOC	δ -Cadinol	0,151
54	HOC	tau-Muurool	0,128
55	S	Isolongifolène*	0,397
56	HOC	Ledène oxide	1,152
57	HOC	(Z,E)-Farnésol*	0,337
58	HOC	cis, trans Farnésal*	0,032
59	HOC	Benzoate de benzyle*	4,895
60	HOC	Acétate de farnésyle*	0,197
61	HOC	Bergamotol, Z-alpha-trans-	0,069
62	HOC	Salicylates de benzyle*	0,873
63	HOC	Benzoate de géranyle*	0,751

64	S	Squalène	1,158
----	---	----------	-------

* Principal composé responsable de la propriété olfactive de l'huile [d'après Buccellato (1982)]

Les résultats obtenus dans ces premiers essais d'extraction directe par solvant et leur analyse par couplage CPG-SM nous ont permis dans un premier temps d'identifier et pour la première fois à notre connaissance les détails des composés chimiques dans l'huile essentielle d'Ylang-Ylang d'origine javanaise. Les sesquiterpènes, extraits majoritaires de l'huile d'Ylang-Ylang javanaise et responsables de l'odeur "bois" qui la caractérise, ont pour molécules majoritaires les Caryophyllènes (33.8%) et le Farnésène (2.8%) (voir le Tableau 3).

3.2. Effet du temps de traitement DIC sur le rendement d'extraction des composés de l'huile résiduelle

Nous avons pu confirmer la sélectivité de la DIC pour les molécules oxygénées légères et lourdes déjà signalée par Rezzoug et al. (2000). Nous avons opté pour traduire l'efficacité d'extraction par DIC d'une molécule donnée par la diminution de sa concentration dans le produit résiduel par comparaison avec la matière première (extrait de référence) ; les résultats sont exposés dans le tableau suivant :

Tableau 4. Influence du traitement de DIC sur la composition de la *propriété totale olfactive*

Propriété Olfactive	Efficacité									
	DIC I					DIC II				
	1 min	5 min	10 min	20 min	30 min	1 min	5 min	10 min	20 min	30 min
M	54.48%	65.67%	76.12%	100.00%	100.00%	58.21%	67.91%	77.61%	100.00%	100.00%
LOC	62.88%	63.36%	72.07%	86.85%	87.52%	62.30%	66.49%	76.38%	86.72%	87.71%
S	26.43%	23.78%	24.57%	36.67%	40.25%	33.47%	40.29%	44.52%	42.24%	48.56%
HOCa	17.82%	18.13%	25.40%	35.72%	41.66%	20.58%	21.78%	28.76%	36.55%	42.24%
Propriété Olfactive	% d'augmentation du rendement de l'huile résiduelle									
	DIC I					DIC II				
	1 min	5 min	10 min	20 min	30 min	1 min	5 min	10 min	20 min	30 min
HOCb	19.35%	31.34%	31.40%	55.58%	76.48%	19.25%	38.42%	34.43%	52.17%	69.89%

D'après le Tableau 4, nous pouvons établir l'existence de 2 phénomènes différents et simultanés :

Le premier phénomène concerne l'épuisement total des monoterpènes et des composés oxygénés légers. Notons qu'une bonne partie des sesquiterpènes et des composés oxygénés lourds est également extraite ; leurs concentrations dans l'extrait résiduel diminuent considérablement par comparaison avec celles de l'extrait de référence ce qui traduit en d'autre terme l'efficacité d'extraction de la DIC. Ceci peut s'expliquer par la facilité relative de libération des composés *volatiles* grâce à l'autovaporisation instantanée ainsi que par l'amélioration des divers processus de diffusion des composés *moins volatiles* du fait de l'amélioration de la texture et de la rupture des parois sécrétrices lors de la détente rapide.

Le deuxième phénomène à signaler est l'augmentation de la quantité globale en composés oxygénés lourds *semi-volatiles* ; leur concentration dans l'extrait résiduel est supérieure à celle de l'extrait de référence. Ce phénomène ne peut s'expliquer que par une augmentation de la "disponibilité" de ces composés grâce à la rupture des parois cellulaires sécrétrices à la

suite de la chute abrupte de la pression. De point de vue de l'extraction par solvant organique, la vitesse de transfert de matière est améliorée ce qui entraîne une libération d'autant plus aisée que les parois cellulaires sont endommagées. Dans le cas d'Ylang-Ylang, les divers composés de l'huile essentielle sont localisés dans des cellules végétales à parois très peu perméables. Il ne s'agirait pas alors d'un cheminement très lent d'huile à travers ces parois de cellules, mais, probablement, d'un phénomène de diffusion à travers une membrane limité par le dialyse. Dans ces conditions, c'est cette diffusion interne qui gouverne la vitesse de transfert et la trituration puis l'agitation même vigoureuse du milieu n'a que peu d'influence sur le transfert proprement dit. Donc, l'extraction classique par solvant (sans prétraitement) ne permet pas d'obtenir l'épuisement total de l'huile essentielle. Une observation similaire a été signalée par Chen et al. (1994) qui ont rapporté une meilleure cinétique d'extraction de l'huile essentielle de romarin par le couplage de micro-ondes à l'extraction par solvant.

D'après le Tableau 4, on constate que le temps de traitement est l'effet le plus significatif pour les composés identifiés dans l'huile résiduelle, viendra après la pression tandis que l'humidité des fleurs est nettement moins significative. Pendant 1 minute, une quantité de 65% des composés oxygénés légers a été isolée ; cette quantité atteint 86% en 20 minutes et s'y stabilise (87% en 30 minutes). Pour les monoterpènes, une extraction complète a été observée en 5 minutes. En revanche, l'extraction directe des composés oxygénés lourds et des sesquiterpènes par traitement DIC est d'une très faible efficacité ; celle-ci augmente avec le temps pour atteindre 36% en 20 minutes et 40% en 30 minutes. Ainsi, l'augmentation du rendement de ces composés, par extraction par solvant atteint plus de 70% au bout de 30 minutes.

4. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

A partir de l'ensemble des résultats ainsi obtenus, nous avons pu définir la Détente Instantanée Contrôlée (DIC) en tant que nouveau procédé d'extraction directe d'huile essentielle et en tant que prétraitement facilitant le processus d'extraction au solvant des fleurs d'Ylang-Ylang.

Nos travaux ont montré la faisabilité de développement du traitement de DIC pour l'extraction directe des composés principalement volatiles de l'huile essentielle en question.

En comparant celui-ci avec le procédé d'entraînement à la vapeur utilisé à l'échelle industrielle de l'huile de Ylang-Ylang, la DIC se distingue par une réduction significative du temps de traitement de 15 heures à 30 minutes. Cette réduction induit une certaine réduction du coût énergétique, l'amélioration de la qualité de l'huile et un bon impact environnemental.

Une optimisation des paramètres clés du procédé (pression, temps de traitement, humidité de la matière première, le nombre de détente...) permet de mieux définir l'efficacité de DIC et son application à l'échelle industrielle.

L'intérêt et le potentiel pharmacologique et cosmétique des autres composés moins volatiles, impliquent la nécessité d'une étude spécifique permettant, par la suite, d'analyser l'utilisation de solvants plus adéquats ; la DIC pourrait alors intervenir en vue de faciliter considérablement la cinétique de l'opération. Les solvants envisagés (éthanol, eau, etc.) sont de toute évidence moins ou non dangereux.

REMERCIEMENT

Ce travail fait partie du projet DIC'Extract réalisé dans le cadre du programme européen INNOVATION & SME et coordonné par la Société ABCAR-DIC Process.

BIBLIOGRAPHIE

1. Allaf K, Rezzoug S.A., Cioffi F., Contento M.P. (1998) "Processus de traitement thermo-mécanique par détente instantanée contrôlée des fruits, jus et peaux d'agrumes". Brevet français n°98/11105 du 29/12/2000 sous le n° 2 782 999.
2. Buccellato F. (1982) "Ylang survey". *Perfum. Flav.* **7** (4) - 9-13.
3. Cai J., Liu B., Ling P., Su Q. (2002) "Analysis of free and bound volatiles by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry in uncased and cased tobaccos". *Journal of Chromatography A.* **947**- 267-275.
4. Chen S.S., Spiro M. (1994) "Kinetics of microwave extraction of rosemary leaves in hexane, ethanol and a hexane + ethanol mixture". *Flavour & Fragrance Journal.* **10**- 101-112.
5. Colgate to offer aromatherapy under Palmolive. (2003) *Focus on Surfactants.* **2003**(10), p. 7.
6. Gaspar F., Santos R., King M.B. (2001) "Disruption of glandular trichomes with compressed CO₂: alternative matrix pre-treatment for CO₂ extraction of essential oils". *Journal of Supercritical Fluids.* **21**- 11-22.
7. Lee S. E. (2002) "Biochemical mechanisms conferring cross-resistance to fumigant toxicities of essential oils in a chlorpyrifos-methyl resistant strain of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera: Silvanidae)". *Journal of Stored Products Research.* **38**(2)- 157-166.
8. Rezzoug S.A., Louka N., Allaf K. (2000) "Effect of the main processing parameters of the Instantaneous Controlled Pressure Drop Process on oil isolation from rosemary leaves. Kinetics aspects". *J. Essent. Oil Res.* **12**- 336-344.
9. Valnet J. *Aromathérapie*, 11^{ème} ed. 1990. Maloine. Paris.