

# ETUDE DU RENDEMENT ET DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES DE TROIS ESPECES DU GENEVRIER MAROCAIN (*J. THURIFERA*, *J. PHOENICEA* ET *J. OXYCEDRUS*)

Achak, N. <sup>1</sup>; Romane, A. <sup>1\*</sup>; Al ifriqui, M. <sup>2</sup>; Adams, R. P. <sup>3</sup>

1-Laboratoire de Chimie Organique Appliquée, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech-Maroc. [romane@ucam.ac.ma](mailto:romane@ucam.ac.ma)

2-Laboratoire d'écologie végétal, Faculté des Sciences Semlalia, Université Cadi Ayyad, Marrakech-Maroc.

3-Département de biologie, Baylor université, USA.

**Résumé** Le genévrier avec toutes ses espèces est un arbre qui constitue une richesse patrimoniale et écologique partagée par les pays du bassin Méditerranéen. Il présente un intérêt très considérable tant sur le plan écologique que sur le plan socio-économique. Une étude du rendement en huiles essentielle et de la composition chimique des trois espèces du *Juniperus* dans la région en haute montagne de l'Atlas du Maroc a été réalisée dans le but de compléter les travaux antérieurs. La variation climatologique, la nature du sol (calcaire ou argile), la variation édaphique et la variation des saisons de récolte des échantillons, constituent les variables qui ont été prises en considération dans cette étude. L'hydro-distillation, la vapohydro-distillation et l'extraction par micro-ondes ont été utilisées pour extraire l'essence de ses espèces. Les résultats obtenus montrent que les feuilles du *J. phoenicea* et *J. oxycedrus* sont riches en essences monoterpéniques tels que:  $\alpha$ -pinène (78% et 30%) et 3-carène (15% et 3,7%) alors que les feuilles du *J. thurifera* l. var *africana* sont riches en sabinène (41%),  $\alpha$ -phellandréne (6,6%) et bornyl acétate (21%).

**Mots clés:** *Juniperus*, Huile essentielle, Rendement, Composition chimique.

## CHEMICAL COMPOSITION OF THE LEAF ESSENTIAL OIL OF *J. THURIFERA*, *J. PHOENICEA* AND *J. OXYCEDRUS* FROM MOROCCO.

**Abstract** The unusual geographical position of Morocco, and its climatic conditions, has created a reservoir of medicinal and aromatic plants. These plants are require a rational exploitation by the study of this essential oil composition and to determine his therapeutic characteristics. In order to develop these natural resources of the area the mountains of the Atlas (Marrakech-Morocco), the essential oil of tree species of (*J. thurifera*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*) was obtained by steam distillation-extraction and micro-wave extraction, and analyzed by capillary gas chromatography using mass spectrometric detection (CPG/SM). The compounds were identified according to their retention indices and mass spectra, showed the existence of several terpinec components such: sabinene (41%),  $\alpha$ -phellandrene (6,6%),  $\alpha$ -pinene (78%), bornyl acetate (21%).

**Key word:** *Juniperus*, Essential oil composition, Steam distillation-extraction, Micro-wave.

## ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE ACEITES ESENCIALES DE TRES ESPECIES DE *JUNIPERUS* MARROQUÍ (*J. THURIFERA*, *J. PHOENICEA*, ET *J. OXYCEDRUS*)

**Resumen** La sabina y todas sus especies son árboles que constituyen una riqueza patrimonial y ecológica compartida en los países mediterráneos. Interesa mucho tanto desde el punto de vista ecológico como desde el socioeconómico. Se realizó una investigación sobre el rendimiento de los aceites esenciales y de la composición química de las tres especies de *Juniperus* en la región de alta montaña del Atlas de Marruecos con el objetivo de completar anteriores trabajos. La variación climatológica, la naturaleza del suelo (calcáreo o arcilloso), la variación edáfica y la variación de las estaciones de recogida de las muestras constituyen variables que deben tenerse en cuenta en esta investigación. Para extraer la esencia de estas especies, se ha utilizado la hidrodestilación, la hidrodestilación por vapor y la extracción por microondas. Los resultados obtenidos muestran que las hojas de *J. phoenicea* y *J. oxycedrus* son ricas en esencias monoterpénicas como  $\alpha$ -pineno (78% y 30%) y 3-carena (15% y 3,7%). En cambio, las hojas de *J. thurifera* l. var *africana* son ricas en sabinene (41%),  $\alpha$ -phellandrene (6,6%) y bornil acetato (21%).

**Palabras clave:** *Juniperus*, aceite esencial, rendimiento, composición química.

## INTRODUCTION

**Le genévrier Thurifère** (*Juniperus thurifera* var. *Africana*) est un arbre ou arbuste de la famille des cupressacées, de port très variable, à feuilles en écailles et à galbules noires

bleuâtres à maturité. Au Maroc, il est rencontré dans deux grands ensembles montagnards : le Haut et le Moyen Atlas (**1, 2, 3**). *J. thurifera* peut se trouver en mélange avec le chêne vert (*Quercus ilex*) dans le Haut Atlas et avec le cèdre (*Cedrus atlantica*) dans le Moyen Atlas.

Dans le Haut Atlas, il apparaît dès 1700 m et peut atteindre 3000 m d'altitude en pieds isolés constituant souvent la limite supérieure de la forêt (**4, 5, 6**). Cet arbre peut présenter des dimensions très impressionnantes. Certains individus atteignent 19 m de haut, la superficie couverte par les thuriféraires marocaines est actuellement estimée à 20 000 ha (**7**). Ses feuilles possèdent une odeur agréable (**8**).

**Le genévrier de Phénicie** ou genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*) est présent au Maroc en 2 blocs ; le premier concerne les peuplements côtiers, le deuxième concerne les peuplements de l'intérieur qui remplacent le Thuya de berbérie quand la continentalité devient importante. Ses feuilles, vert foncé, sont de petits bâtons formés, ses baies sont légèrement plus grosses, 6 à 15 mm, d'un marron foncé tournant au rouge à pleine maturité.

*J. phoenicea* est un petit arbre de 3 à 5 m de hauteur et parfois même 8 m, possédant un tronc court qui peut atteindre 2 m de circonférence. Les junipéraires rouges sont des formations pré forestières ou pré steppiques, généralement sous forme de futaies assez basses et ouvertes, à sous-bois très pauvre et se rencontrent souvent en mélange avec le Thuya de berbérie, le Chêne vert, l'Oxycèdre ou le Pin d'Alep.

Le genévrier de Phénicie est très recherché pour son bois de service. Ce dernier est utilisé aussi pour le chauffage et pour fabriquer du charbon et du goudron végétal. Cette espèce est très utilisée en médecine traditionnelle : les feuilles sont utilisées sous forme de décoction pour soigner le diabète, diarrhée et rhumatisme. Dans la région de Marrakech, les feuilles séchées et réduites en poudre peuvent guérir les affections broncho-pulmonaires et diurétiques (**8**).

**Genévrier oxycèdre :** Le cade, est le nom principal du *Juniperus oxycedrus*, appelé cèdre piquant, espèce de large répartition géographique et peu exigeante vis-à-vis du milieu, participe à l'organisation de structures forestières, pré forestières et pré steppiques diverses, mais sans jamais former de peuplements purs remarquables.

C'est un grand arbre, susceptible de dépasser 10 m. Ses feuilles, linéaires, aciculaires, étroites et piquantes, d'environ 16 mm de long, sont creusées sur la face supérieure de deux sillons blanchâtres sur fond vert. Les fruits, plus gros, de 6 à 8 mm de diamètre, deviennent marron plus ou moins clair la deuxième année et rouge clair à complète maturité. Ils ne tournent au noir que par vieillissement.

Le genévrier Oxycèdre est largement réparti dans toutes les contrées méridionales de l'Europe et du nord de l'Afrique, ainsi qu'en Asie occidentale, sur les collines où il s'accommode des terrains les plus secs et les plus rocailleux. Dans le Haut Atlas de Marrakech, il se rencontre dans la limite des thuriféraires. Ailleurs au Maroc, il se trouve souvent en mélange avec le Chêne vert (*Quercus rotundifolia*), le genévrier rouge (*Juniperus phoenicea*), le Thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) ou les Pins, voir avec le Cèdre ou le Sapin (*Abies pinsapo maroccana*).

Dans ce travail, nous envisageons d'étudier quantitativement et qualitativement les huiles essentielles de ces trois espèces (*J. Thurifera*, *J. phoenicea*, *J. oxycedrus*) collectées

dans la chaîne montagneuse de l'Atlas du Maroc et plus précisément dans la région de Tensift- Al Haouz à Marrakech.

La variation du site de prélèvement, de la saison et de la méthode d'extraction constituent les variables qui ont été prise en considération dans cette étude.

## **MATERIEL ET METHODES**

Les feuilles de *Juniperus thurifera var. africana*, de *Juniperus phoenicea* et de *Juniperus oxycedrus*, récoltées (N.ACHAK, A. ROMANE et M. MAHROUG) de différents sites de la région Tensift- Al Haouz à Marrakech (Oukaimden-Forêt Islane, Oukaimden-Ait Lkak, Plateau de Matat, Amassine-Ourika, Amassine-Kik), dans différentes saisons, ont été soumises à une extraction par entraînement à la vapeur d'eau (vapodistillation), distillation à l'eau (hydrodistillation) et une extraction assistée par micro-ondes à pression atmosphérique.

Le rendement en huiles essentielles est exprimé par la quantité d'huile (en ml) obtenue pour 100 g de matière végétale (fraîche et sèche).

Les fractions d'huiles essentielles récupérées sont conservées au réfrigérateur au laboratoire de chimie organique appliquée à -20°C jusqu'à l'analyse.

La composition chimique des huiles essentielles a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse de type Varian 3800 équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) et muni d'une colonne capillaire en phényle polysiloxane de type DB5 de 30 m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25 µm d'épaisseur de film. La température de la colonne est programmée de 70°C à 240°C à raison de 3°C/min. La température de l'injection est fixée à 220°C et celle de détecteur (FID) à 250°C. Le débit du gaz vecteur (hélium) est fixé à 1ml/min. Le volume de l'échantillon injecté est 0,1µl de l'huile essentielle pure diluée à 10% dans l'hexane. Le pourcentage relatif de chaque composé dans l'huile est déterminé à partir des aires des pics. L'identification des constituants a été réalisée par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse de type Varian 3800 à un spectromètre de masse de type Saturn 2000 muni d'une trappe enregistrant à 70eV.

Les constituants des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs indices de rétention sur la colonne DB5 avec ceux des produits de référence dans une banque de données (9).

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

Cette étude présente l'effet de trois variables sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles de trois espèces du *Juniperus* (*J. thurifera*, *J. phoenicea* et *J. oxycedrus*) à savoir : l'effet de site de prélèvement, l'effet de la saison de récolte et l'effet de la méthode d'extraction.

### **I- Les variables étudiées**

#### **1. le site de prélèvement :**

L'influence de l'origine géographique sur le rendement et la composition chimique est considérée comme le résultat de l'action combiné du climat et du sol. Une étude récente (10) montre que l'origine géographique a un effet sur la composition chimique de certaines populations du genévrier thurifère dans les Hauts Atlas (Tizi-n'Ait-Imi et Tizi-n'Tichka).

Le genévrier thurifère est récolté dans trois sites différents : Oukaimden-Forêt Islane, Oukaimden-Ait Lkak et Plateau de Matat, le tableau 1 présente les caractéristiques de ces trois provenances.

Le genévrier de phénicie et le genévrier oxycèdre sont récoltés d'Amassine-Ourika, Amassine-Kik et Asni écomisée, les caractéristiques de ces sites sont enregistrées dans le tableau 2.

## **2. La saison de récolte :**

La période de récolte influence également les rendements de la distillation et la composition chimique des huiles essentielles des plantes aromatiques.

Nous avons étudié la variation du rendement et celle de la composition chimique des huiles essentielles en fonction de trois saisons de récolte : l'automne, l'hiver et le printemps.

## **3. La méthode d'extraction :**

Trois méthodes d'extraction sont utilisées pour isoler les huiles essentielles :

- Distillation à l'eau « hydrodistillation » : le matériel végétal à distiller est mis en contact direct avec l'eau bouillante.

- Distillation à la vapeur d'eau « vapodistillation » : l'eau se trouve séparer du matériel végétal. La vapeur saturée ou surchauffée à pression légèrement supérieure à la pression atmosphérique est introduite au fond du matériel par un système de conduite et traverse la masse végétale de bas en haut.

- Extraction assistée par micro-ondes : c'est une technique développée dans le but d'extraire des produits naturels comparables aux huiles essentielles et aux extraits aromatiques. Le rayonnement micro-ondes permet de chauffer sélectivement l'eau présentée naturellement dans le matériel végétal. Ce chauffage, en vaporisant l'eau continue dans les glandes oléifères, crée à l'intérieur de ces dernières une pression qui brise les parois végétales et libère ainsi le contenu en huile. Cette huile est entraînée avec la vapeur d'eau contenue dans le végétal, vers un système de récupération (figure 1).

## **II- Résultat et discussion**

### **1. Le genévrier thurifère**

#### **1.1. Effet du site de prélèvement :**

Le rendement moyen des différents échantillons étudiés varie de 0,32 et 1,58% en matière fraîche et sèche. Les échantillons de provenance Oukaimden-Ait-Lkak a enregistré un rendement relativement élevé par rapport à celui fourni par les populations : Oukaimden-Forêt Islane et Plateau de Matat (figure 2).

Les huiles essentielles des échantillons du site Oukaimden-Ait-Lkak et du Plateau de Matat présentent les mêmes constituants majoritaires. Elles sont caractérisées par une teneur élevée en sabinène (37,1% contre 21,2%), par contre les huiles essentielles de la provenance Oukaimden-Forêt-Islane présente comme produit majoritaire  $\delta$ -cadinène avec un pourcentage de 12,7 %.

### **1.2. Effet de la saison de récolte :**

Le rendement des huiles essentielles du thurifère varie entre 0,26 et 1,05% en matière fraîche et sèche. La figure 3 montre que le rendement est élevé en automne avec un pourcentage de 1,05% en matière sèche.

La composition chimique des huiles essentielles dans les trois saisons du genévrier thurifère montre une importante variation. Le sabinène est le produit majoritaire, présent en quantité élevée en printemps et en hiver, par contre se trouve en faible quantité en automne.

$\alpha$ -pinène,  $\delta$ -3-caréne et limonène sont présentés en grande quantité en hiver, mais ils sont faibles dans les autres saisons.  $\alpha$ -muroène,  $\gamma$ -cadinène,  $\alpha$ -cadinène, élémol et  $\alpha$ -eudesmol, se trouvent en quantité considérable en printemps par rapport aux autres saisons.

### **1.3. Effet de la variation méthode d'extraction :**

Le rendement des huiles essentielles en matière fraîche du genévrier thurifère est présenté dans la figure 4. L'hydrodistillation est la méthode la plus intéressante pour avoir un bon rendement, alors que les deux autres méthodes ne présentent pas une grande différence.

## **2. Le genévrier de Phénicie**

### **2.1. Effet du site de prélèvement :**

La figure 5 montre la variation du rendement en huiles essentielles en matière fraîche et sèche du genévrier de Phénicie. Les échantillons de la provenance Amassine-Kik note un pourcentage d'huiles essentielles en matière sèche plus élevé par rapport aux autres sites, alors en matière fraîche, le rendement reste indifférent.

L' $\alpha$ -pinène est le produit majoritaire des huiles essentielles du genévrier de Phénicie, il varie de 38,2 à 78,7%, mais il se trouve en quantité élevée en matière fraîche dans le site d'Amassine-Kik avec un pourcentage de 78,7% contre 58% et 59,3% respectivement dans Amassine-Ourika et Asni Ecomisée. Les produits,  $\delta$ -3-caréne et p-cymène présentent un pourcentage élevé à la provenance Asni Ecomisée avec respectivement un pourcentage en matière sèche de 19,5 et 2,5%.

### **2.2. Influence de la saison de récolte :**

Le rendement des échantillons d'huiles essentielles du genévrier de Phénicie au printemps montre un maximum en matière sèche de 1,28%, par contre dans les deux autres saisons ne présente pas une grande différence (figure 3).

La composition chimique du genévrier de Phénicie montre que  $\alpha$ -pinène se trouve en quantité élevée au printemps avec un pourcentage en matière fraîche de 70,8%, par contre dans l'automne et l'hiver le pourcentage de ce produit ne figure pas une grande différence. Le constituant  $\delta$ -3-caréne présente 19,5% en matière sèche à l'hiver, alors qu'il présente qu'à 9,7% et 5,5% respectivement à l'automne et au printemps.

### **2.3. Variation de la variation méthode d'extraction :**

La figure 4 montre que l'extraction assistée par micro-onde est mieux adaptée pour l'extraction des huiles essentielles en matière fraîche de genévrier de Phénicie.

L'effet de la variation de la méthode d'extraction sur la composition chimique de genévrier de Phénicie est en cours d'étude.

### **3. Le genévrier oxycédre**

#### **3.1. Effet du site de prélèvement :**

Le rendement en huile essentielle de l'espèce *J. oxycedrus* présente un maximum à Amassine-Kik avec un pourcentage de 0,03% en matière fraîche, dans les autres sites il ne présente pas une grande différence (figure 5).

L'  $\alpha$ -pinène présente son maximum à Amassine-Kik avec un pourcentage de 20,5% en matière fraîche et 30,5% en matière sèche. Le produit 6Z-pentadécén-2-one note une quantité élevée dans le site d'Asni Ecomisée, jusqu'à 25,4% en matière fraîche, par contre il est présent dans les deux autres sites avec une quantité variant de 5,2% à 12,5%.

Cependant le constituant oxyde de 13-épi-manoyl se trouve avec un pourcentage très élevé à Amassine-Ourika (13,2% en matière fraîche et 12,5% en matière sèche), par contre il se trouve en faible quantité dans Amassine-Kik et Asni Ecomisée.

#### **3.2. Effet de la saison de récolte :**

Au printemps, les huiles essentielles du genévrier oxycédre présente un rendement élevé par rapport aux autres saisons (0,06% contre 0,01% en hiver et automne) (figure 3).

La variation de la composition chimique du *J. oxycédrus* en fonction de la saison montre qu'au printemps, l'  $\alpha$ -pinène présente un pourcentage plus élevé par rapport aux autres saisons, les constituants  $\beta$ -phellandrène et trans-sabinol sont présents avec une quantité de 3% et 5,2% en matière sèche en hiver et presque absent dans les autres saisons, le germacrène D est présent en automne avec un pourcentage de 5,5% en matière sèche, cependant il est négligé au printemps et à l'hiver.

#### **3.3. Effet de la variation méthode d'extraction :**

L'hydrodistillation ou distillation à l'eau reste la méthode la plus adaptée pour l'extraction des huiles essentielles du genévrier oxycédre, elle présente un rendement de 0,06% en matière fraîche (figure 4).

## **CONCLUSION**

Les huiles essentielles du genévrier que nous avons étudié donnent après extraction des huiles essentielles avec des rendements intéressants. Pour *J. thurifera* le rendement atteint 2%, pour *J. phoenicea* le rendement atteint 1%, et pour *J. oxycedrus* le rendement atteint 0,06%.

Cette étude a montré également, que la composition chimique des huiles essentielles de genévrier est variable. Différentes classes de composés sont représentées (les hydrocarbures et des alcools mono et sesquiterpéniques, des aldéhydes et des cétones). Parmi les constituants identifiés, l'  $\alpha$ -pinène,  $\beta$ -phellandrène, 6Z-pentadécén-2-one, le sabinène,  $\delta$ -3-caréne et limonène sont rencontrés à des teneurs relativement importantes selon les espèces.

## REFERENCES

- 1- L. EMBERGER, La végétation du massif des Seksawas (Grand-Atlas occidental). *Compt. Rend.* 198: 968 - 970 (1934).
- 2- P. QUEZEL, Biogéographie et Ecologie des conifères sur le pourtour méditerranéen. In *Actualités d'Ecologie forestière: Sol, Flore, Faune* (Collection P. Pesson, INA)- Ed. Gauthier-Villars, Paris, 205-255 (1980).
- 3- M. LECOMPTE, *La végétation du Moyen Atlas central (Esquisse phytogéographique et carte des séries de végétation au 1/200 000)*. *Trav. Inst. Sc. Cher. Sér. Bot. et BV.* 31, 1-34 (1969).
- 4- P. QUEZEL & M. BARBERO, Contribution à l'étude des formations pré-steppiques à Genévriers au Maroc. *Bull. Soc. Broteriana. Coimbra*, 13: 1137-1160 (1981).
- 5- M. ALIFRIQUI, Contribution à l'étude du milieu et de la végétation dans le Haut Atlas occidental d'Amizmiz (Massif de l'Erdouz-Igdat, Maroc). Thèse III<sup>o</sup> cycle, Université Cadi Ayyad, Fac. Sciences Marrakech, 304 p. + 1 carte (1986).
- 6- B. HALOUI, Contribution à l'étude du milieu et de la végétation du bassin versant de l'oued Rheghaya (Haut Atlas de Marrakech). Thèse III<sup>o</sup> cycle, Université Cadi Ayyad, Fac. Sciences Marrakech, 123 p. + 1 carte (1986).
- 7- M. BARBERO, P.QUEZEL, & R.LOISEL, Les apports de la phytoécologie dans l'interprétation des changements et perturbations induits par l'homme sur les écosystèmes forestiers méditerranéens. *Forêts méditerranéennes*, XII: 193-215 (1990).
- 8- J. BELLAKHDER, la pharmacopée marocaine traditionnelle, Edition Ibis Press, p 271-272 (1997).
- 9- R. P. ADAMS, *Identification of essential oil components by Gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy*. Allured Publ., Carol Stream, IL (2001).
- 10- R. P. ADAMS, L.E. MUMBA, S. A. JAMES, R. N. PANDEY, T. GAUQUELIN AND W. BADRI, Geographic variation in the leaf essential oils and DNA fingerprints (RAPDs) of *Juniperus thurifera* L. from Morocco and Europe. *J. Ess. Oil Res.* 15, 148 -154 (2003).

**Tableau 1** : caractéristiques des différents sites étudiés du *J. thurifera* var. *africana*

Population	Altitude (m)	Nature du sol
Okaimden-AIT Lkak	2500	Grés
Plateau de Matat	2200	Grés de trias
Oukaimden- Forêt Islane	2200	Grés

**Tableau 2** : caractéristiques des différents sites étudiés du *J. phoenicea*

Population	Altitude (m)	Nature du sol
Amassine-Ourika	1300	Sableux-Argileux
Amassine-Kik	1300	Grés de trias
Asni Ecomisée	1300	Calcaire

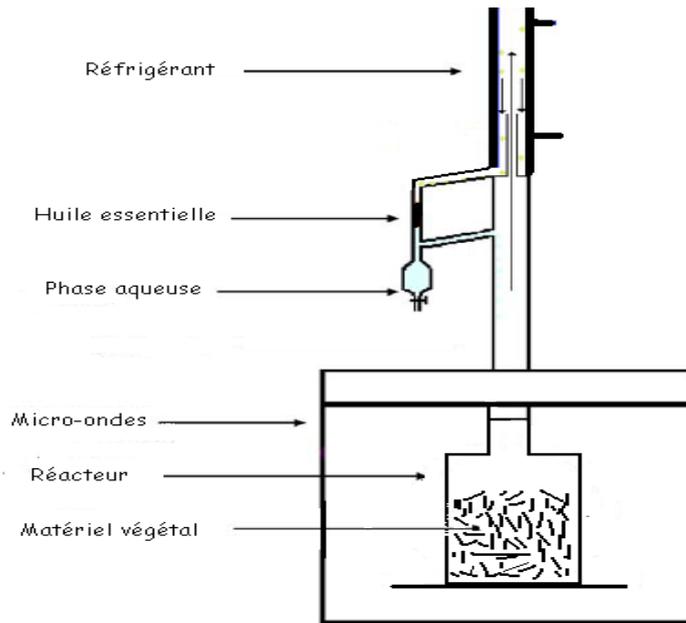


Figure 1 : Montage d'une distillation par micro-ondes

Figure 2 : variation du rendement de la thurifère en fonction du site de prélèvement

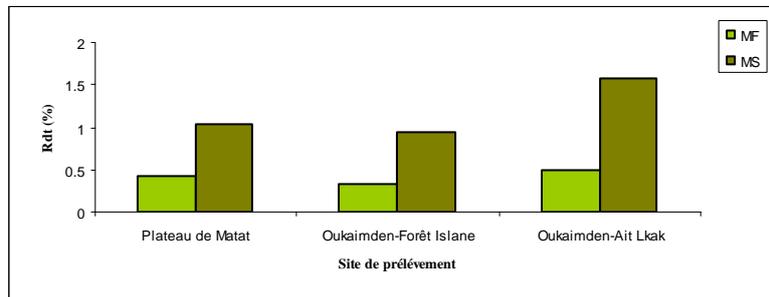
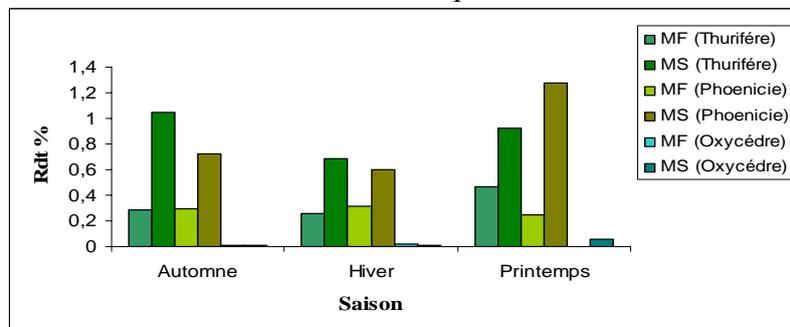
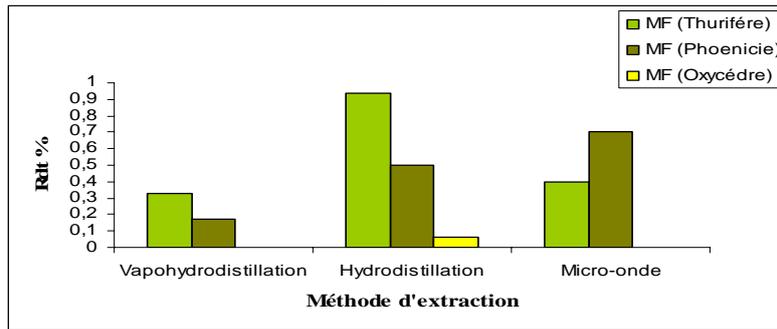


Figure 3 : variation du rendement des trois espèces étudiées en fonction de la saison



**Figure 4 :** Variation du rendement des trois espèces en fonction de la méthode d'extraction



**Figure 5:** variation du rendement du genévrier de Phénicie et d'oxycédre en fonction du site de prélèvement

