



Article original

# Mesure de la concentration aérienne de COV terpéniques (dont le limonène) selon plusieurs procédures lors de pulvérisations d'un mélange d'huiles essentielles

*The concentration of airborne volatile organic compounds (VOC), including terpenes (e.g., limonene) determined by several methods after spraying a mixture of essential oils*

C. Delmas<sup>a</sup>, A.-S. Weiler<sup>a</sup>, S. Ortega<sup>a</sup>, O. Duong<sup>a</sup>, A. Dazy<sup>a</sup>, M. Ott<sup>a</sup>, C. Schneider<sup>c</sup>, R. Moritz<sup>c</sup>, N. Leclerc<sup>c</sup>, E. Rivière<sup>c</sup>, F. de Blay<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Pneumologie, allergologie, pathologie respiratoire de l'environnement, pôle de pathologie thoracique, hôpitaux universitaires de Strasbourg, BP 426, 67091 Strasbourg cedex, France

<sup>b</sup> Université de Strasbourg, fédération de médecine translationnelle EA3072, 67000 Strasbourg, France

<sup>c</sup> ASPA—association pour la surveillance et l'étude de la pollution atmosphérique en Alsace, 67300 Schiltigheim, France

Reçu le 12 novembre 2015 ; accepté le 2 février 2016

Disponible sur Internet le 8 mars 2016

## Résumé

**But de l'étude.** – Les huiles essentielles sont de plus en plus utilisées et parfois recommandées par les industriels qui fabriquent les produits qui éliminent les allergènes.

**Patients et méthodes.** – Le but de l'étude était de mesurer la concentration de composés organiques volatils et de limonène dans l'air après avoir pulvérisé un mélange de 41 huiles essentielles. La quantification du limonène a été appréciée suivant 3 procédures différentes. Dans la première, le contenu de limonène a été mesuré par pesage, sachant que le produit contient entre 4 et 5 % de limonène. Dans la deuxième procédure, 2 séries de 10 mesures de concentration de limonène dans l'air ont été réalisées par un appareil à photo-ionisation ppBRAE3000® Katrem® (France) après 4 pulvérisations d'huiles essentielles dans une cabine de 9 m<sup>3</sup>. Au cours de la troisième procédure, la concentration aérienne de limonène a été mesurée par l'appareil de photo-ionisation et par spectrophotométrie après prélèvement sur des cartouches TENAX TA, après 8 pulvérisations dans une pièce de 42 m<sup>3</sup>.

**Résultats.** – La masse de limonène mesurée par pesage était en moyenne de 57,7 mg (pour 4 pulvérisations). Dans la cabine de 9 m<sup>3</sup>, la concentration moyenne maximale de limonène était de 57,30 mg/m<sup>3</sup>. Dans la pièce de 42 m<sup>3</sup>, la concentration moyenne de limonène était respectivement de 15,0 mg/m<sup>3</sup> et 7,48 mg/m<sup>3</sup> sur 30 minutes et 3 heures par photo-ionisation. Ces données ont été confirmées par spectrophotométrie (> 4,87 mg/m<sup>3</sup> de limonène et > 38,97 mg/m<sup>3</sup> de COV terpéniques).

**Conclusion.** – Nous avons démontré dans 3 situations différentes que l'utilisation d'huiles essentielles par pulvérisation entraîne une augmentation aérienne des COV totaux et du limonène supérieure aux normes. Aux vues des données de littérature, les concentrations élevées de COV totaux sont délétères pour les asthmatiques. Par conséquent, l'utilisation d'huiles essentielles sous forme de spray ne doit pas être recommandée chez les patients asthmatiques.

© 2016 Publié par Elsevier Masson SAS.

**Mots-clés :** Huiles essentielles ; Composés organiques volatils ; Asthme ; Limonène ; Terpène

## Abstract

**Aim.** – Essential oils are used more and more to fight against allergens, and they are sometimes recommended for that purpose by manufacturers. The aim of this study was to measure the concentration of limonene in ambient air after spraying a mixture of 41 essential oils.

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [frederic.deblay@chru-strasbourg.fr](mailto:frederic.deblay@chru-strasbourg.fr) (F. de Blay).

**Methods.** – The airborne limonene concentration was measured using three different protocols: in the first protocol, after four sprays the amount of limonene was measured by weighing, knowing that the mixture used contained 4–5 % limonene; in the second protocol, after two series with four sprays of the essential oils mixture into a 9 m<sup>3</sup> test cabin, ten assays of the concentration of airborne limonene were performed using a French photo-ionization detector (ppbRAE3000<sup>®</sup> Katrem<sup>®</sup>); in the third protocol, after 8 sprays of the essential oils mixture in a 42 m<sup>3</sup> test room, the limonene concentration was measured using the photo-ionization detector and mass spectrometry with a TENAX TA cartridge.

**Results.** – The amount of airborne limonene measured by weighing was 57.7 mg (average of 4 sprays). In the 9 m<sup>3</sup> experimental chamber, the highest concentration of limonene was 57.3 mg/m<sup>3</sup>. In the 42 m<sup>3</sup> room, the mean concentration of limonene measured with the photo-ionization detector was 15.0 mg/42 m<sup>3</sup> after 30 minutes and 7.48 mg/42 m<sup>3</sup> after 3 hours. These results were confirmed using the mass spectrometry method, with > 4.87 mg/42 m<sup>3</sup> of limonene and > 38.97 mg/42 m<sup>3</sup> of VOC terpenes.

**Conclusion.** – We have demonstrated with three different methods that spraying an essential oils mixture resulted in an increase of airborne VOCs and limonene higher than normal values. According to the literature, high total VOC concentrations above the standard values are harmful for patients with asthma. Consequently, spraying essential oils mixtures should not be recommended for asthmatic patients.

© 2016 Published by Elsevier Masson SAS.

**Keywords:** Volatile organic compounds; Essential oils; Asthma; Limonene; Terpenes

## 1. Introduction

Les huiles essentielles sont des produits issus de matières premières végétales soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Elles sont adoptées par notre société moderne pour leurs capacités à générer des odeurs agréables et leurs bio-activités. Elles auraient des effets insecticides, antifongiques et antibactériennes, des effets sur le système musculo-squelettique et le système nerveux, une action gastro-protectrice, sédative et anti-spastique [1]. De ce fait, les huiles essentielles sont très souvent commercialisées dans l'objectif d'épurer l'air de nos milieux intérieurs.

Les huiles essentielles contiennent des composés organiques volatils (COV). Parmi ceux-ci, on compte les terpènes, qui correspondent à une classe d'hydrocarbures produites par de nombreuses plantes. Le limonène, qui fait partie de cette famille, peut contribuer en présence d'ozone, à la formation d'aérosols organiques secondaires en phase gazeuse et particulaires [2]. L'une des productions majeures dérivée de la réaction d'oxydation des terpènes est le formaldéhyde [2]. Les COV ont été décrits comme irritants pour les bronches, voire potentialisateur de la réponse bronchique à l'allergène chez les sujets normaux et particulièrement chez les sujets allergiques et asthmatiques lors de test d'exposition aux COV et d'études épidémiologiques [3–5]. Les huiles essentielles, en raison de leurs propriétés anti-allergéniques, ont été proposées chez des patients allergiques qui peuvent être asthmatiques et/ou rhinitiques. À ce jour, aucune étude contrôlée n'a été réalisée pour apprécier l'effet clinique des huiles essentielles et notamment du limonène chez les patients présentant une allergie respiratoire.

Le but de notre étude était de mesurer, selon 3 méthodes différentes, les concentrations de limonène et de COV totaux dans l'air après utilisation d'un produit d'huiles essentielles (41 huiles essentielles de Puresentiel<sup>®</sup>) vendues en pharmacie à visée de destruction des « germes, acariens, champignons et moisissures ».

## 2. Matériel et méthode

### 2.1. Produit analysé

Pour obtenir des résultats au plus près des conditions de la vie réelle, nous avons opté pour l'analyse d'un spray aux 41 huiles essentielles de Puresentiel<sup>®</sup> vendu dans le commerce et dont les indications étaient les suivantes: « détruire germes, acariens, champignons microscopiques, virus, mauvaises odeurs. . . Assainir l'air, dégager les voies respiratoires, limiter les sources d'allergies (chambre d'enfants et d'adultes, personnes malades, pièces humides, peu ventilées, W.-C., cuisine. . .), atmosphère polluée ou enfumée, odeurs de literie, d'animaux, bureaux, ateliers, lieux public, voiture. . . ». Le produit a été utilisé selon les procédures recommandées par le fabricant.

### 2.2. Matériel d'analyse

Les mesures de concentrations de limonène émis lors de l'utilisation des huiles essentielles ont été réalisées par plusieurs méthodes.

#### 2.2.1. Mesure du limonène par photo-ionisation

Les premières mesures ont été réalisées à l'aide d'un appareil de photo-ionisation ppbRAE3000<sup>®</sup> Katrem<sup>®</sup> (France). Cet appareil permet la mesure des composés organiques volatils, en prélevant l'atmosphère à surveiller à l'aide d'une pompe. Le flux d'air est amené dans une chambre d'ionisation contenant une lampe à ultraviolet de 10,6 eV et deux électrodes soumises à une différence de potentiel. Sous l'effet du rayonnement, les molécules dont le potentiel d'ionisation est inférieur à l'énergie de la lampe sont ionisées. Ainsi, l'appareil mesure les COV dont l'énergie d'ionisation est inférieure à celles des photons de la lampe de 10,6 eV. Le produit aux 41 huiles essentielles utilisé pour les mesures libère de nombreux COV. Pour obtenir la concentration de d-limonène, un facteur de correction de 0,33 fourni par le RAE 3000 a été utilisé. Le temps de réponse des mesures est de 3 secondes.

Tableau 1  
Récapitulatif des procédures utilisées pour mesurer les concentrations aériennes des COV terpéniques et des aldéhydes dans la pièce de 42 m<sup>3</sup>.

Mesures	Mesure active aldéhydes	Mesure active COV
T0 blanc	X	X
T1 : Les 30 1 <sup>res</sup> minutes suivant la pulvérisation	X	X (2 cartouches en série)
T2 : de 30 min à 60 min après pulvérisation	X	X (2 cartouches en série)
Laboratoires d'analyses	GIE-LIC	TERA environnement

### 2.2.2. Mesure des COV (terpéniques et dérivés) et des aldéhydes par spectrophotométrie

Comme une des limites de photo-ionisation était la mesure d'autres COV terpéniques présentant un facteur de correction proche du d-limonène, pouvant conduire à une surestimation de la concentration, nous avons réalisé des dosages des COV totaux, aldéhydes, terpéniques et ses dérivés par spectrophotométrie (Tableau 1).

Le prélèvement actif consiste à faire passer l'air d'une pièce à l'aide d'une pompe pendant un temps de 30 minutes à travers des cartouches adaptées à la fixation des polluants recherchés. Le débit du prélèvement étant contrôlé, le volume final d'air prélevé est connu. La quantité de molécules piégées sera proportionnelle à sa concentration dans l'air.

Les prélèvements de la famille des aldéhydes se sont déroulés avec un débit d'environ 0,4 L/min sur des cartouches Lp DNPH S10L-Sigma Aldrich (cartouches de silice imprégnées de 2,42-DNPH). L'analyse a été réalisée au GIE-LIC laboratoire inter-régional de chimie (ASPA, Schiltigheim) par chromatographie liquide haute performance couplée à un détecteur ultraviolet selon la norme NF-ISO 16000-3.

Les COV terpéniques et ses dérivés ont été prélevés sur des cartouches TENAX TA (polymère d'oxyde de 2,6-diphényl-p-phénylène) à un débit régulier de 0,180 L/min selon les préconisations de la norme NF EN ISO 16017-1. Deux tubes en série ont été placés afin de contrôler le perçage, en raison d'un risque de teneurs élevées en COV. L'analyse au laboratoire a été faite chez TERA environnement (Crolles) par thermodesorption puis chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse selon la norme NF-ISO 16017-1.

## 2.3. Déroulement de l'étude

### 2.3.1. Premier protocole

Le premier protocole a consisté à calculer la concentration théorique de limonène dans une pulvérisation et dans quatre pulvérisations d'huiles essentielles, dans l'objectif de prédire la reproductibilité du test et de calculer la dose de limonène théorique qui sera libérée lors des procédures suivantes. L'huile contenait, d'après les données obtenues auprès du Centre anti-poison de Strasbourg, autour de 70 % d'éthanol et autour de 4–5 % de limonène, ainsi que du linalol et de nombreux autres constituants en quantité faible pour chacun d'entre eux. Les pesées de 1 et des 4 pulvérisations d'huiles essentielles étaient réalisées sur une balance de précision (Précisa XB220A, Suisse)

avec l'utilisation d'un récipient fermé de type bûcher couvert par un parafilm® pour éviter des pertes liées à l'évaporation. Au total, 3 séries de 10 mesures ont été pratiquées : la première avec la pesée d'une pulvérisation du spray aux 41 huiles essentielles de Puresentiel®, les deux suivantes avec la pesée de 4 pulvérisations, l'une avec un spray déjà entamé et l'autre avec un spray neuf. D'après la masse d'huiles essentielles obtenues après 1 pulvérisation et 4 pulvérisations, il était possible de déduire la masse théorique de limonène (en estimant que le limonène représentait environ 4,5 % du poids mesuré).

### 2.3.2. Deuxième protocole

Le second protocole mesurait la concentration aérienne de limonène par un appareil de photo-ionisation ppBRAE3000® Katrem® (France). Dix mesures ont été réalisées dans une cabine de 9 m<sup>3</sup> sans fenêtre dont le taux de renouvellement moyen d'air était de 30,5 m<sup>3</sup>/h. Entre chaque test, le débit d'extraction de l'air de la cabine a été augmenté pour éliminer tout le produit précédemment vaporisé avec un taux de renouvellement moyen de 54,6 m<sup>3</sup>/h. L'appareil de mesure était situé à 0,80 mètres du sol sur une table au centre de la pièce. La température et l'humidité étaient notées au début et à la fin de chaque mesure.

Entre chaque mesure de concentration de limonène, l'appareil mesurait le bruit de fond dans la cabine pendant 10 minutes.

Une première série de mesures a été réalisée après une pulvérisation d'huiles essentielles à 1,80 mètres de hauteur, au centre de la cabine. Les concentrations de limonène ont été mesurées toutes les 30 secondes pendant 20 minutes. Des concentrations de limonène aberrantes (supérieures à deux déviations standard au-dessus de la moyenne des concentrations obtenues) dues à la contamination de l'appareil par une goutte d'huile essentielle n'étaient pas prises en compte.

D'après les recommandations du fabricant, il est possible de réaliser six à huit pulvérisations des huiles essentielles Puresentiel® pour une pièce. À partir de ces informations une nouvelle série de mesure en condition quasiment réelle a été réalisée. En raison de la taille de la pièce (9<sup>3</sup>), la quantité de pulvérisation a été diminuée à 4 pulvérisations d'huiles essentielles. Elles ont été réalisées à une hauteur de 1,80 mètres du sol dans les 4 coins de la pièce. La concentration de limonène a été mesurée selon les modalités décrites au paragraphe précédent. Après une mesure du bruit de fond de la cabine, qui sera soustrait du calcul final, les pulvérisations étaient effectuées. Les mesures ont été réalisées toutes les 30 secondes pendant une durée de 30 minutes.

### 2.3.3. Troisième protocole

Dans une pièce de 42 m<sup>3</sup> (L = 5,94 m ; l = 2,32 m ; h = 3,08 m), nous avons mesuré les concentrations de limonène libérées en utilisant le spray conformément aux instructions du fabricant en conditions réalistes. Le but de cette expérience était de mimer une utilisation classique de ce spray et de déterminer les concentrations de limonène auxquelles sont exposés les utilisateurs dans une pièce d'habitation standard avec une porte et une fenêtre sans ventilation mécanique contrôlée. La pièce contenait quatre étagères, un bureau d'angle, une table et quatre chaises.

La porte mesurait 2 mètres de hauteur pour 1 mètre de largeur. La fenêtre avait une hauteur de 1,60 mètres pour une largeur 1,40 mètres. Les mesures étaient réalisées avec la porte et la fenêtre fermées.

Avant chaque série de mesures, nous avons enregistré la concentration résiduelle de limonène présente dans la pièce avec l'appareil ppbRAE3000® Katrem®, qui était placé sur la table, à 1,72 mètres du sol. Si des concentrations résiduelles significatives de limonène étaient mesurées, elles étaient soustraites aux valeurs mesurées après les pulvérisations d'huiles essentielles.

Une première série de mesures a été réalisée après une pulvérisation d'huiles essentielles à 1,80 mètres de hauteur, bras tendu, au centre de la pièce. Un marquage au sol indiquait la place du manipulateur. Les concentrations de limonènes ont été mesurées toutes les 30 secondes, pendant 20 minutes par l'appareil ppbRAE3000® Katrem®. Cette manipulation a été répétée 10 fois, en prenant soin de renouveler l'air dans la pièce entre chaque série de mesures par l'ouverture de la fenêtre et de la porte pendant 20 minutes.

Dans une deuxième série de mesure, 2 pulvérisations du spray ont été réalisées dans chaque coin de la pièce à une hauteur de 1,80 mètres avec le bras tendu, soit un total de 8 pulvérisations ce qui correspondait aux recommandations du fabricant. Des marques au sol indiquaient au manipulateur l'emplacement exact où il devait se tenir. L'appareil ppbRAE3000® Katrem® a mesuré la concentration de limonène toutes les 30 secondes pendant 30 minutes. Cette manipulation a été répétée 10 fois, en prenant soin de renouveler l'air dans la pièce entre chaque série de mesures.

Dans les conditions similaires, les mesures ont été complétées par deux prélèvements actifs par pompage de l'air avec analyse différée au laboratoire sur cartouches TENAX TA et Lp DNPB S10L-Sigma Aldrich sur une durée de 30 minutes : le premier T1 (les 30 premières minutes après pulvérisations) et le second T2 (de 30 à 60 minutes après pulvérisations). Un prélèvement témoin avant pulvérisation a été réalisé (T0) (Tableau 1).

Pour apprécier la décroissance des concentrations aériennes de limonène, une troisième série de mesures a été réalisée à l'aide de l'appareil ppbRAE3000® Katrem® avec le même protocole que lors de la deuxième série mais en augmentant le temps de mesure (toutes les 30 minutes pendant 3 heures) et ceci à 10 reprises. Toutes les procédures précédentes ont été réalisées par le même expérimentateur.

### 3. Résultats

#### 3.1. Premier protocole

Le poids d'une et 4 pulvérisations d'huiles essentielles et la masse déduite de limonène par pulvérisation ont été mesurés à 10 reprises. La masse d'une pulvérisation d'huiles essentielles était en moyenne de 298 mg, avec un écart-type de 15,12 mg sur dix pulvérisations. Le coefficient de variation intra-essai était respectivement pour 1 et 4 pulvérisations de 5,08 % et 3,54 %. Ainsi, la quantité théorique de limonène était de 13,40 mg et 57,70 mg pour respectivement 1 et 4 pulvérisations. Ce qui représentait une concentration aérienne

théorique de 1490  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  et 6410  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de limonène dans une pièce de 9  $\text{m}^3$  pour une et quatre pulvérisations. Les valeurs au cours de la 3<sup>e</sup> procédure étaient estimées à 2620  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  pour 8 pulvérisations dans une pièce de 42  $\text{m}^3$ . La quantité théorique de limonène obtenue après quatre pulvérisations avec un flacon neuf était supérieure à celle obtenue avec un flacon usagé.

#### 3.2. Deuxième protocole : concentration aérienne de limonène dans une pièce de 9 $\text{m}^3$

##### 3.2.1. Concentration de limonène avant début de test

La concentration aérienne moyenne de limonène était de 35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  dans l'air de la cabine, avant toute pulvérisation d'huiles essentielles.

##### 3.2.2. Concentration de limonène après une pulvérisation d'huiles essentielles au centre de la pièce

Une pulvérisation a libéré une concentration moyenne de limonène de 10,4  $\text{mg}/\text{m}^3$ . Après une pulvérisation, la concentration maximale de limonène était de 73,6  $\text{mg}/\text{m}^3$  à 30 secondes, suivie d'une décroissance sur 20 minutes pour atteindre une concentration de 2  $\text{mg}/\text{m}^3$  soit 57 fois plus par rapport au taux résiduel.

##### 3.2.3. Concentration de limonène après quatre pulvérisations d'huiles essentielles

La mesure de la concentration de limonène pendant 30 minutes après 4 pulvérisations aux quatre coins de la pièce a retrouvé un pic de concentration maximale moyenne de 57,3  $\text{mg}/\text{m}^3$  suivie d'une décroissance sur 30 minutes pour atteindre une concentration de 3  $\text{mg}/\text{m}^3$ , soit 57 fois plus par rapport au taux résiduel (Fig. 1a).

#### 3.3. Troisième protocole

##### 3.3.1. Concentration de limonène dans une pièce de 42 $\text{m}^3$ avec l'appareil ppbRAE 3000

Les concentrations aériennes résiduelles de limonène obtenues avant chaque test atteignaient au maximum une valeur de 26  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (Fig. 1b et c). Une pulvérisation de spray aux huiles essentielles réalisée dans une pièce a libéré une concentration moyenne de limonène de 2  $\text{mg}/\text{m}^3$ . La concentration moyenne du limonène mesurée dans l'air sur une période de 30 minutes après huit pulvérisations d'huiles essentielles était de 15  $\text{mg}/\text{m}^3$ . En revanche, les concentrations moyennes de limonène dans l'air, sur 3 heures, après huit pulvérisations d'huiles essentielles étaient de 7,4  $\text{mg}/\text{m}^3$ . La valeur minimale de limonène 3 heures après les pulvérisations était de 5  $\text{mg}/\text{m}^3$ .

##### 3.3.2. Mesure des COV (terpéniques et dérivés) et des aldéhydes par spectrophotométrie dans une pièce de 42 $\text{m}^3$

Pendant la procédure, la température moyenne et l'humidité moyenne étaient respectivement de 22,5 °C et de 42 %.

Les résultats des 20 composés organiques majoritaires sont présentés dans le Tableau 2. Avant pulvérisation, les teneurs en COV terpéniques sont très faibles. Sur les 30 premières

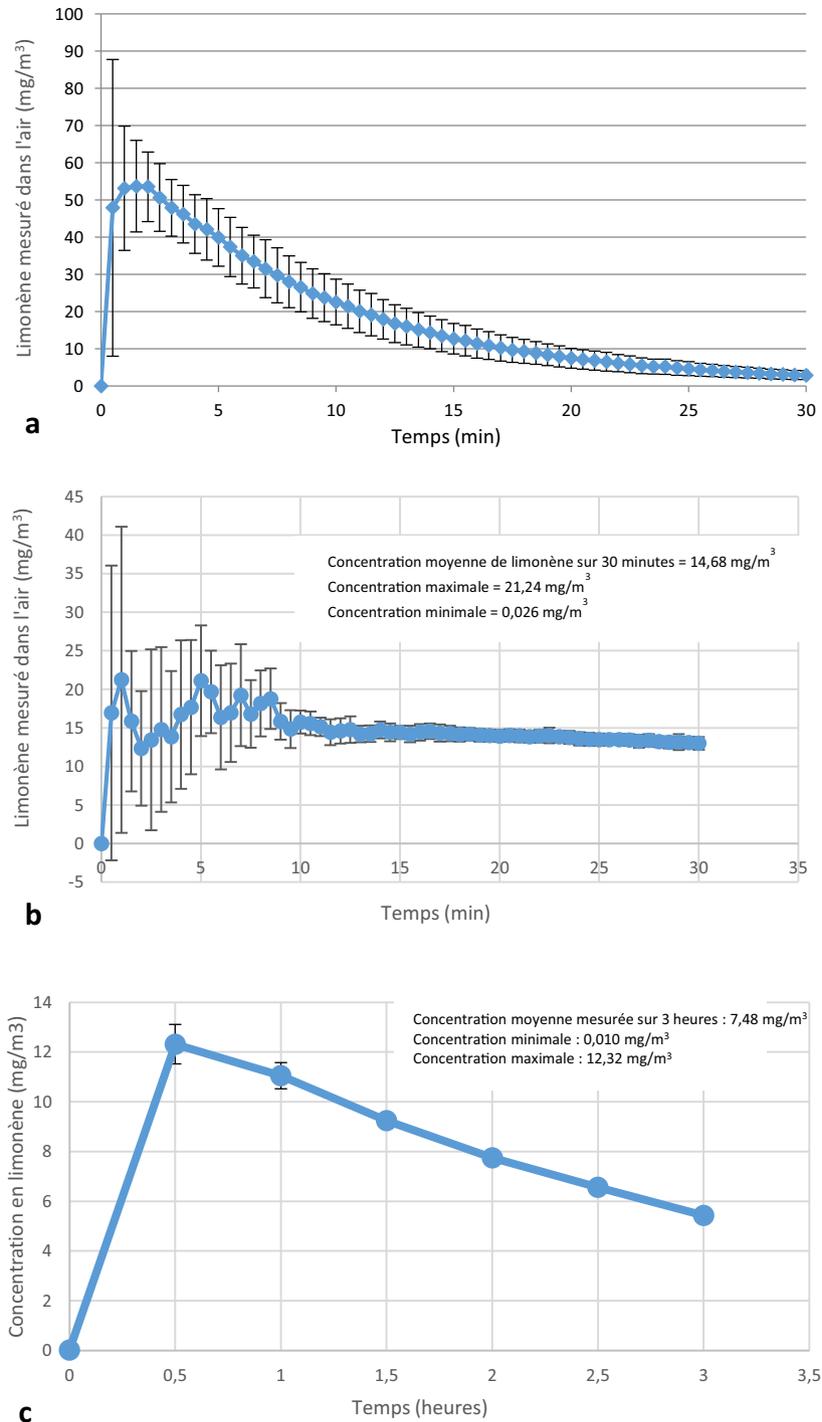


Fig. 1. Concentration moyenne de limonène mesurée dans l'air (mg/m<sup>3</sup>) en fonction du temps (min) par méthode de photo-ionisation ; a : après 4 pulvérisations du spray aux 41 huiles essentielles<sup>®</sup> dans une cabine de 9 m<sup>3</sup> ; b et c : après 8 pulvérisations du spray aux 41 huiles essentielles<sup>®</sup> dans une pièce de 42 m<sup>3</sup> sur une période de 30 minutes et de 3 heures.

minutes (T1) la somme des COV terpéniques et dérivés terpéniques était supérieure à 39 mg/m<sup>3</sup> et a diminué à 20,9 mg/m<sup>3</sup> au cours des 30 minutes suivantes (T2). On note la présence d'un phénomène de claquage, défini comme le volume d'atmosphère d'essai, qui peut traverser le tube avant que la concentration de vapeurs d'éluion n'atteigne 5 % de la concentration d'essai selon la norme 16017-1, pour 5 COV à T1 (eucalyptol, le limonène, alpha-pinène, 3-Carène et

Bicyclo [3.1.1] heptane, 6,6-diméthyl-2-méthylène-(1S)-) et 3 COV à T2 (eucalyptol, alpha-pinène, Bicyclo [3.1.1] heptane, 6,6-diméthyl-2-méthylène-(1S)-). L'eucalyptol, le limonène, le linalyl acétate, le 5 méthyl-2-(1-méthyléthyl) cyclohexanol, le linalol (3,7-diméthyl-1,6-Octadien-3-ol) sont les composés mesurés en plus grande quantité.

Le formaldéhyde était présent dans la salle avant les pulvérisations à hauteur de 27,6 µg/m<sup>3</sup>. La concentration de

Tableau 2

Mesure de la concentration de composés organiques volatils dans une pièce de 42 m<sup>3</sup> sur tubes actifs (résultats en µg/m<sup>3</sup>).

	Avant pulvérisation (T0)	Pendant les 30 premières minutes après pulvérisation (T1)	De 30 à 60 minutes après pulvérisation (T2)	T1/T0 → T2-T0	T2-T1
Eucalyptol	<LQ	> 12 365,7	> 8359,5		
Limonène	4,1	> 4875,9	3034,8	3030,7	
Alpha-pinène	0,5	> 1247,9	> 1153,1		
O-cymène	<LQ	1010,4	472,0	472,0	-538,4
Gamma terpinène	<LQ	961,5	506,6	506,6	-454,9
Béta-pinène	<LQ	850,7	385,5	385,5	-465,2
Bicyclo [3.1.1] heptane, 6,6-diméthyl-2-méthylène-(1S)-	<LQ	> 761,4	> 658,4		
3-Carène	<LQ	> 762	442,8	442,8	
2-Carène	<LQ	195,2	41,8	41,8	-153,4
Cyclohexanol, 5-méthyl-2-(1-méthylethyl)-	5,3	3398,5	1167,6	1162,3	-2230,9
1,6-Octadien-3-ol, 3,7-diméthyl- ou linalol	<LQ	3123,0	1529,1	1529,1	-1593,9
L-alpha-terpineol	<LQ	716,7	214,8	214,8	-501,9
Endo-borneol	<LQ	297,7	101,7	101,7	-196,0
Linalyl acetate	<LQ	4504,8	1551,8	1551,8	-2953,0
Méthyl salicylate	<LQ	1443,4	362,0	362,0	-1081,4
Camphor	<LQ	1148,7	551,4	551,4	-597,3
Carvone	0,5	645,4	144,4	143,9	-501,0
Cyclohexanone, 5-méthyl-2-(1-Méthylethyl) (ou isomère)	0,7	663,2	220,7	220,0	-442,5
Somme (µg/m <sup>3</sup> )	11	> 38 972	> 20 898		

La concentration d'essai, selon la norme 16017-1, pour 5 COV à Test 1 (T1) (eucalyptol, le limonène, alpha-pinène, 3-Carène et Bicyclo [3.1.1] heptane, 6,6-diméthyl-2-méthylène-(1S)-) et 3 COV à Test 2 (T2) (eucalyptol, alpha-pinène, Bicyclo [3.1.1] heptane, 6,6-diméthyl-2-méthylène-(1S)-). L'eucalyptol, le limonène, le linalyl acétate, le 5-méthyl-2-(1-méthylethyl) cyclohexanol, le linalol (3,7-diméthyl-1,6-Octadien-3-ol) sont les composés mesurés en plus grande quantité ; LQ : limite de quantification.

formaldéhyde mesurée sur les 30 premières minutes suivant la pulvérisation est restée stable après 30 minutes.

#### 4. Discussion

Notre travail a pu montrer que lors de l'utilisation selon les recommandations du fabricant du spray Puresentiel® aux 41 huiles essentielles selon 4 procédures, les concentrations aériennes de limonène étaient très élevées.

Notre premier objectif était d'apprécier la reproductibilité des pulvérisations du produit de façon à déterminer les concentrations aériennes précises de limonène. Elle est tout à fait satisfaisante, les coefficients de variation étaient inférieurs à 20 %. Cependant les quantités délivrées par pulvérisation étaient plus faibles lorsque le spray était déjà entamé. On peut considérer que nos résultats sont reproductibles.

Les concentrations de limonène mesurées dans l'air de la cabine et de la pièce étaient significativement plus importantes que celles estimées selon le premier protocole. Cette répartition inégale des gouttelettes de produits dans les pièces peut être liée à la température et l'humidité, ou à une surestimation due à un biais de confusion par mesure d'autres COV terpéniques.

Lors du deuxième protocole dans la chambre expérimentale, nous avons obtenu des taux artificiellement très élevés en raison de la position du capteur par rapport à la position de la pulvérisation du spray. Cependant, lors des mesures aux 4 coins de la pièce en dehors de tout biais de prélèvement, les taux mesurés au pic et au taux résiduel (77,7 mg/m<sup>3</sup> et 2 mg/m<sup>3</sup>) étaient

très au-dessus des valeurs recommandées. Ces résultats ont été confirmés dans une pièce d'habitat où les valeurs étaient respectivement de 15 mg/m<sup>3</sup> et 5 mg/m<sup>3</sup>.

Pour confirmer les résultats obtenus avec le RAE par photoionisation nous avons réalisé des dosages quantitatifs de 20 COV terpéniques et dérivés et des aldéhydes par la méthode quantitative spécifique. Ainsi, des concentrations importantes de limonène et de COV terpéniques totaux ont été retrouvées, respectivement entre 4,8 mg/m<sup>3</sup> (T1) et 3 mg/m<sup>3</sup> (T2) et entre 38,9 mg/m<sup>3</sup> (T1) et 20,8 mg/m<sup>3</sup> (T2).

Dans les protocoles 2 et 3, les concentrations de d-limonènes ont systématiquement dépassé les valeurs seuils autorisées. En effet, si d'après les données de l'INRS, il n'y a pas de seuils limites d'exposition professionnelle pour le limonène établis en France ou aux États-Unis ; en revanche, la commission allemande Deutsche Forschungsgemeinschaft a fixé une valeur maximale de 110 mg/m<sup>3</sup> soit 20 ppm pour le limonène [6].

En revanche, pour l'intérieur non professionnel, dans un document de l'Union européenne de 2005, dans 7 études épidémiologiques les seuils entraînant des symptômes étaient évalués à 10 fois la dose limite d'exposition (450 µg/m<sup>3</sup>) correspondant à l'apparition des odeurs. Ainsi, pour les experts, dès que les odeurs du limonène sont perceptibles, les concentrations mesurées sont entre 1 et 2 mg/m<sup>3</sup> et correspondent au seuil d'irritation possible pour des sujets normaux. [7] Concernant les COV totaux, Molhave a proposé des valeurs de référence pour les composés organiques volatiles totaux. Une exposition à moins de 200 µg/m<sup>3</sup> serait sans effet sur la santé, une exposition à plus

de 3000  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  semblerait causer des irritations, de l'inconfort et possiblement certains effets sur la santé, et au-dessus de 25  $\text{mg}/\text{m}^3$  les doses seraient toxiques. [8].

Les concentrations mesurées dans les 2 pièces sont largement supérieures à ces valeurs guides.

En effet, les concentrations de limonène dans les logements sont habituellement très basses. Dans la campagne pilote de l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) sur 90 logements, les valeurs de limonène mesurées dans les chambres étaient de 12  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  à 71  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Par ailleurs, l'OQAI a montré que les concentrations de COV totaux à l'intérieur des bâtiments sont plus élevées qu'à l'extérieur [9]. Peu d'études ont évalué les concentrations de limonène et de terpènes en conditions réalistes. Des concentrations aériennes de limonène et de différents composés organiques volatils ont été mesurées lors de l'évaporation d'huiles essentielles d'eucalyptus, d'arbre à thé et de lavande, par une bougie chauffante dans deux pièces de 25  $\text{m}^2$  chacune (chambre et bureau) à Taiwan. Les concentrations de d-limonène variaient entre 2,37 et 69,32  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ . Les concentrations de terpènes (linalol, d-limonène, eucalyptol et terpinéol) étaient maximales dans les 20 premières minutes. La valeur moyenne des COV totaux était de 0,74 ppm versus 0,48 ppm avant les essais soit une augmentation d'environ 35 % (valeur  $p < 0,01$ ) [10].

Notre étude a permis de retrouver des concentrations de limonène nettement plus élevées. Ces différences peuvent être liées à plusieurs paramètres comme l'utilisation des huiles essentielles en pulvérisation dans notre travail par rapport à l'évaporation grâce à une bougie chauffante ou à la dilution des huiles essentielles en raison du niveau de ventilation des pièces qui étaient extrêmement élevées dans l'étude taiwanaise, respectivement 1,8 changement d'air par heure et 1,3 changement d'air par heure (pour rappel, en France, les normes de ventilation d'un logement bien isolé sont à 0,2 changement d'air par heure) mais également des conditions climatiques (température et humidité) très différentes entre Taiwan et Strasbourg.

L'exposition aux huiles essentielles peut aggraver l'asthme chez des patients déjà asthmatiques. Une étude a comparé l'exposition à un parfum et à un placebo chez 39 asthmatiques par rapport à 13 témoins. La diminution du VEMS était significativement plus importante chez les asthmatiques que chez les témoins. De plus, la diminution du VEMS était liée à la sévérité de l'asthme, soit 36 % pour les asthmes sévères, 17 % pour les modérés et 8 % pour les légers [11].

À côté des asthmatiques, les patients souffrant d'hypersensibilité chimique multiple sont des sujets à risque. Chez 11 sujets reconnus comme présentant une hypersensibilité chimique multiple ont présenté des symptômes similaires à l'asthme (toux, dyspnée) et une irritation oculaire après l'exposition aérienne en simple insu à un parfum versus placebo [12].

Les fragrances sont également responsables d'asthmes professionnels [13,14].

Enfin, le limonène a également été décrit comme un agent de sensibilisation cutanée. En effet, certains patients ont des patchs tests positifs aux COV dont le limonène [10,15,16]. Malgré

des données sur le rôle potentiel des COV comme sensibilisant cutané, le mécanisme le plus fréquemment retenu dans la détérioration de la fonction respiratoire chez les patients asthmatiques serait plutôt irritatif.

## 5. Conclusion

Nous avons démontré par plusieurs méthodes de mesure complémentaires dans 2 situations différentes que l'utilisation d'huiles essentielles (Puresentiel 41<sup>®</sup>) par pulvérisation entraîne une augmentation aérienne des COV totaux et du limonène supérieure aux normes. Aux vues des données de littérature, les concentrations élevées de COV terpéniques sont délétères pour les asthmatiques. Par conséquent, l'utilisation d'huiles essentielles sous forme de spray ne doit pas être recommandée chez les patients asthmatiques.

## Déclaration de liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

## Références

- [1] Lahlou M. Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr J* 2004;19:159–65.
- [2] Weschler CJ. Ozone in indoor environments: concentration and chemistry. *Indoor Air* 2000;10:269–88.
- [3] Cassat A, de Blay F. Effets sur la santé des composés organiques volatils de l'habitat. *Rev Mal Respir* 2008;25:475–85.
- [4] Billionnet C, Gay E, Kirchner S, Leynaert B, Annesi-Maesano I. Quantitative assessments of indoor air pollution and respiratory health in a population-based sample of French dwellings. *Environ Res* 2011;111:425–34.
- [5] Nielsen GD, Larsen ST, Olsen O, Løvik M, Poulsen LK, Glue C, et al. Do indoor chemicals promote development of airway allergy? *Indoor Air* 2007;17:236–55.
- [6] Bonnard N, Brondeau MT, Falcy M, Jargot D, Schneider O. Fiche toxicologique du dipentène ou d,l-limonène. INRS; 2010.
- [7] European Commission, Joint Research Center. The INDEX project. Final Report; 2005.
- [8] Molhave L. Volatile organic compounds, indoor air quality and health. *Indoor Air* 1991;1(4):357–76.
- [9] OQAI. Campagne nationale logements : état de la qualité de l'air dans les logements français rapport final. Observatoire de la qualité de l'air intérieur; 2007.
- [10] Su HJ, Chao CJ, Chang HY, Wu PC. The effects of evaporating essential oils on indoor air quality. *Atmos Environ* 2007;41:1230–6.
- [11] Kumar P, Caradonna-Graham VM, Gupta S, Cai X, Rao PN, Thompson J. Inhalation challenge effects of perfume scent strips in patients with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1995;75:429–33.
- [12] Millqvist E, Bengtsson U, Löwhagen O. Provocations with perfume in the eyes induce airway symptoms in patients with sensory hyperreactivity. *Allergy* 1999;54:495–9.
- [13] Lessenger JE. Occupational acute anaphylactic reaction to assault by perfume spray in the face. *J Am Board Fam Pract* 2001;13:137–40.
- [14] Baur X, Schneider EM, Wieners D, Czuppon AB. Occupational asthma to perfume. *Allergy* 1999;54:1334–5.
- [15] Rutherford T, Nixon R, Tam M, Tate B. Allergy to tea tree oil: retrospective review of 41 cases with positive patch tests over 4,5 years. *Australas J Dermatol* 2007;48:83–7.
- [16] Buckley DA, Rycroft RJ, White IR, McFadden JP. The frequency of fragrance allergy in patch-tested patients increases with their age. *Br J Dermatol* 2003;149:986–9.