

N° d'ordre :
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MOULOUD MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE



MEMOIRE

Présenté pour obtenir le Grade de

MASTER

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Par

M^{lle} Benazzouz Amina.

M^{lle} Hamdane Akila.

Thème

*Etude et analyse des plantes médicinales Algérienne :
Mentha pulegium, Mentha rotundifolia
et Mentha spicata L.*

Jury :

M ^{me} N. KICHOU	Maître de conférence B à l'UMMTO	Présidente
M ^{me} K.IGHIL AHRIZ	Maître assistante B à l'UMMTO	Examinatrice
M ^{me} G.IRANTENI	Maître assistante A à l'UMMTO	Examinatrice
M ^{me} N. HAMZAOUI	Maître de Conférence à l'USTHB	Promotrice

Juillet 2012

Remerciements

On tient à remercier, Dieu le tout puissant pour nous avoir donnée de la force et de la patience.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Chimie Pharmaceutique du Département de Chimie de la Faculté des Sciences de l'Université Mouloud Mammeri (UMMTO) et au Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (LAOF) de la Faculté de Chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B) sous la direction de Mme N. Dahmani-Hamzaoui Maître de conférences à UMMTO et Maître de recherche au LAOF de la Faculté de Chimie de l'USTHB.

Nous tenons à exprimer nos infinis remerciements à notre promotrice pour son encadrement, pour son aide précieuse et surtout pour tous ses conseils et ses remarques qui nous ont permis de réaliser ce modeste travail

Nous remercions également Mr le Professeur A. BALIOUAMEUR. Directeur du LAOF et Mr le Professeur B.MEKLATI. Directeur du Centre de Recherche en Analyse Physico-chimique CRAPC pour nous avoir autorisés de réaliser les extractions et les analyses chromatographiques et spectroscopiques au sein du LAOF

On exprime nos profonds remerciements pour

M^{me} KICHOU Nora maître de conférence B à L'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou pour l'honneur qu'elle nous a fait pour assurer la présidence du jury.

M^{me} IGHIL AHRIZ Karima maître assistante B à L'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail.

M^{me} IRANTENI Ghenima maître assistante A à L'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail

Nos remerciements vont également à tous nos Enseignants de graduation qui ont participé à notre formation, Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de notre gratitude, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à accomplir ce travail.

Dédicaces

Je Dédie ce modeste travail à :

A mes très chers parents pour leurs innombrables sacrifices

Ames chers frères, en reconnaissance de leur affection toujours constante

A tous mes proches

A tous mes amis et tous ceux qui me sont chers

Akila

Dédicaces

Je Dédie ce modeste travail à :

A mes parents, sources constantes d'encouragement, de soutien et d'affection

A mon mari Omar

A ma très chère sœur Imane

A mon cher frère Ahmed Amine

A tous mes proches

A toutes mes amies et tous ceux qui me sont chères

Amina

Résumé

Cette étude a pour objectif l'étude et l'analyse des huiles essentielles de la menthe verte, la menthe pouliot et la menthe à feuilles rondes ainsi que les extraits secs de la *M.rotundifolia*, récoltés dans la région de la Kabylie en Algérie. L'extraction a été réalisée avec l'hydrodistillation pour les huiles essentielles et par solvants organiques pour les extraits.

L'analyse par chromatographie gazeuse (GC) et par chromatographie gazeuse couplée par un spectromètre de masse (GC/MS) nous a permis de déterminer la composition chimique des huiles essentielles étudiées. L'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) de l'extrait acétate a révélé la présence de polyphénols.

L'étude du pouvoir antioxydant a été réalisée par la méthode de réduction du radical DPPH a montré l'existence d'une activité antioxydante de nos essences. Cette étude a révélé une activité moyennement faible des huiles essentielles alors que l'extrait d'acétate de la *M.rotundifolia* présente un pouvoir antioxydant très important.

L'estimation de l'effet antimicrobien des huiles a été déterminée, par la technique de confrontation directe en boîte de Pétri, sur milieu solide. Les résultats obtenus varient d'une souche à l'autre. Ainsi l'effet inhibiteur le plus marqué a été obtenu avec *Candida albican* et *Staphylocoque aureus*.

Mots clés : Extraction, huile essentielle, extrait, polyphénol, *Mentha spicata L*, *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia*, chromatographie en phase gazeuse couplée par spectrométrie de masse (GC/MS), chromatographie en phase gazeuse (GC), activité antioxydante, activité antimicrobienne.

Abstract

This study has for objective the study and the analysis of essential oil of the spearmint, the mint pouliot and the mint with round leaves as well as extracts them dry of *M. rotundifolia*, collected in the region of Kabylia in Algeria. The extraction was realized with the hydrodistillation for essential oil and by organic solvents for extracts.

The analysis by gaseous chromatography (GC) and by gaseous chromatography coupled by a mass spectrometer (GC / MS) allowed us to determine the chemical composition of studied essential oil. The analysis by high-performance liquid chromatography (HPLC) of the extract acetate revealed the presence of polyphenols.

The study of the antioxidant power was realize by the method of reduction of the radical DPPH · showed the existence of an antioxidizing activity of our essences. This study revealed an activity averagely low of the essential oil then activity that extracts him from acetate of *M. rotundifolia*.

The estimation of the antimicrobial effect of oil was determined, by the technique of direct confrontation in box of Molded, The obtained results vary from an origin to the other one. So the most marked inhibitive effect was obtained with *Candida albican* and *Staphylococcus aureus*

Keywords : extraction, essential oil, extract, polyphenol, *Mentha spicata L*, *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia*, chromatography in gas phase coupled by mass spectrometry (GC / MS), chromatography in gas phase (GC), antioxidizing activity, antimicrobial activity.

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION GENERALE	1

PARTIE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES PLANTES MEDICINALES	3
I.1. Définition.....	3
I.2. Utilisation des plantes médicinales	3
I.3. Substances actives des plantes médicinales	3
II. PRESENTATION DE LA MENTHE	4
II.1. Généralités	4
II.2. Etude botanique	5
II.2.1. Classification botanique des plantes	5
II.2.2. Propriétés des plantes	6
II.2.2.1. Mentha pulegium	6
a. Origine et répartition géographique.....	6
b. Description botanique.....	6
c. Propriétés et emplois.....	7
d. Composition chimiques.....	8
e. Toxicologie.....	8
II.2.2.2. Mentha spicata L	8
a. Origine et répartition géographique.....	8
b. Description botanique.....	8
c. Propriétés et emplois.....	9
d. Composition chimiques.....	9
e. Toxicologie.....	10
II.2.2.3. Mentha rotundifolia	10
a. Origine et répartition géographique.....	10
b. Description botanique.....	10
c. Propriétés et emplois.....	11
d. Composition chimiques.....	12
e. Toxicologie.....	12
II.3. Les Huiles essentielles	12
II.3.1. Définition	12
II.3.2. Emplois des huiles essentielles	12
a. En pharmacie.....	12
b. Dans l'industrie.....	13
II.3.3. Localisation des huiles essentielles	13
II.3.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles	13
II.3.5. Composition chimique des huiles essentielles.....	14
a. Composés terpéniques.....	14
b. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane.....	15

c. Les composés d'origines diverses.....	15
II.3.6. Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles	15
II.3.7. La toxicité des huiles essentielles	16
III. LES FLAVONOÏDES	17
III.1. Structure chimique des flavonoïdes	17
III.2. Localisation et distribution des flavonoïdes	17
III.3. Activités biologiques des flavonoïdes	18
IV. ACTIVITES BIOLOGIQUES	18
IV.1. Activité antioxydante	18
IV.1.1. L'oxydation	18
IV.1.2. Stress oxydatif	19
IV.1.3. Radicaux libres et leur origine	19
IV.1.4. Antioxydant	20
IV.1.5. Détermination de l'activité antioxydante	21
IV.2. Activité antimicrobienne	22
IV.2.1. Les propriétés antimicrobiennes importantes	22
IV.2.2. Mode d'action contre les bactéries	23
V. PROCÉDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	23
V.1. Procédés mettant en jeu la vapeur d'eau	23
V.1.1. L'hydrodistillation	23
V.1.2. L'entraînement à la vapeur	24
V.2. L'extraction par solvant organique volatil	24
VI. METHODES D'ANALYSE	24
VI.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou CG).....	24
VI.1.1. Principe de fonctionnement	24
VI.1.2. Appareillage	25
VI.1.3. Les grandeurs de rétention	27
a. Le temps de rétention (t_r).....	27
b. Indice de rétention	27
VI.2. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM).....	28
VI.2.1. Principe	28
VI.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	28
IV.3.1. Principe	28
VI.3.2. Appareillage	29

PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE

I. MATERIEL VEGETALE.....	30
II. DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU.....	30
III. DETERMINATION DE LA VITESSE DE SECHAGE.....	31
IV. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES PAR HYDRODISTILLATION.....	31
a. Mode opératoire.....	31
b. Conditions opératoires.....	32
c. Détermination du rendement.....	33
V. EXTRACTION DES FLAVONOÏDES DE LA <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i>	33

a. Mode opératoire.....	33
b. Calcul du rendement.....	34
VI. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES ESSENCES	35
a. Principe	36
b. Mode opératoire	36
VII. ANALYSE DES EXTRAITS.....	36
VII.1. Analyse des huiles essentielles.....	36
a. Chromatographie en phase gazeuse.....	37
b. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.....	37
VII.2. ANALYSE DES FLAVONOÏDES PAR HPLC.....	38
VIII. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE D'HUILES ESSENTIELLES DE TROIS PLANTES ET DE L'EXTRAIT DE <i>Mentha rotundifolia</i>	39
a. Choix et origine des souches tests.....	39
b. Les milieux de culture.....	40
c. Préparation de pré-culture.....	40
d. Préparation de la suspension bactérienne.....	41
e. Procédure expérimentale.....	41
f. Dépôt de disques.....	41

PARTIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. CENETIQUE DE SECHAGE.....	42
II. CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES.....	44
III. DETERMINATION DU RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES.....	45
III.1. Des huiles essentielles.....	45
III.2. Des extraits.....	46
IV. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES HUILES ESSENTIELLES.....	46
IV.1. Huiles essentielles.....	47
a. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH.....	47
b. Détermination de la CE ₅₀	47
IV.2. Extraits de la <i>M. Rotundifolia</i>	49
a. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH.....	49
b. Détermination de la CE ₅₀	49
V. ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES PAR GC ET GC/MS.....	50
VI. ANALYSE DE L'EXTRAIT DE LA <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i> PAR HPLC.....	60
VII. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES ET L'EXTRAIT ACETATE DE LA <i>MENTHA ROTUNDIFOLIA</i>	63
CONCLUSION GENERALE.....	65
Références Bibliographiques	
Glossaire	
Annexes	

ABREVIATIONS

Ab: Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

BHIB : Brain Heart Infusion Broth (en français "Bouillon d'infusion de cœur et de cerveau")

BHT : butylhydroxytoluène

AcOEt : Acétate d'éthyle

CPG (GC) : Chromatographie en phase gazeuse

D : Diamètres d'inhibition de la croissance microbienne

DL₅₀ : Dose létale 50

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl

EtOH : Ethanol

E. coli: Escherichia coli

GC/MS (CG/SM): Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

HE : Huile essentielle

HPLC (CLHP): Chromatographie liquide haute performance

IC₅₀ : Concentration inhibitrice minimale.

IR : Indice de rétention

MeOH : Méthanol

M.pulegium: Mentha pulegium.

M.rotundifolia: Mentha rotundifolia

M.spicata L: Mentha spicata L

R² : Coefficient de régression

SM : Spectrométrie de masse

S.aureus : Staphylocoque aureus

Strep. pyogenes : Streptococcus pyogenes

tr: Trace

Tr : Temps de rétention

USA : United States of America (en français "Etats –Unis d'Amérique")

UV : Spectroscopie ultraviolet

% : Pourcentage.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. <i>Mentha pulegium</i> (Menthe Pouliot).....	7
Figure 2. <i>Mentha spicata</i> L (Menthe verte).....	9
Figure 3. <i>Mentha rotundifolia</i> (menthe à feuilles rondes).....	11
Figure 4. Structures chimiques des composées rencontrées dans les huiles essentielles.....	15
Figure 5. Structure chimique du flavane.....	17
Figure 6. Structure du 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).....	21
Figure 7. Mécanisme de réaction.....	22
Figure 8. Appareillage de la chromatographie en phase gazeuse.....	25
Figure 9. Schéma simplifié d'un appareil d'HPLC.....	29
Figure 10. Montage d'extraction par hydrodistillation utilisé.....	32
Figure 11. Montage du rotavapeur utilisé pour l'extraction des extraits.....	34
Figure 12. Protocole d'extraction des flavonoïdes des feuilles de la <i>Mentha rotundifolia</i>	35
Figure 13. Evolution de la teneur en eau de la <i>Mentha pulegium</i> en fonction de temps.....	42
Figure 14. Evolution de la teneur en eau de la <i>Mentha spicata</i> L en fonction de temps.....	42
Figure 15. Evolution de la teneur en eau de la <i>Mentha rotundifolia</i> en fonction de temps.....	42
Figure 16. Evolution de la vitesse de séchage de la <i>Mentha pulegium</i> en fonction de temps....	43
Figure 17. Evolution de la vitesse de séchage de la <i>Mentha spicata</i> L en fonction de temps....	43
Figure 18. Evolution de la vitesse de séchage de la <i>Mentha rotundifolia</i> en fonction de temps.	43
Figure 19. Pourcentages en huiles essentielles.....	45
Figure 20. Pourcentage de capture du radical DPPH de la <i>M.pulegium</i>	48
Figure 21. Pourcentage de capture du radical DPPH de la <i>M.spicata</i> L.....	48
Figure 22. Pourcentage de capture du radical DPPH de la <i>M.rotundifolia</i>	49
Figure 23. Pourcentage de capture de radical libre DPPH en fonction des concentrations des extraits éthanolique et acétatique <i>Mentha rotundifolia</i>	49
Figure 24. Chromatogramme de l'huile essentielle de la <i>Mentha pulegium</i> par GC/MS.....	57
Figure 25. Chromatogramme de l'huile essentielle de la <i>Mentha spicata</i> L par GC/MS.....	57
Figure 26. Chromatogramme de l'huile essentielle de la <i>Mentha rotundifolia</i> par GC/MS.....	58
Figure 27. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huile de la <i>Mentha Pulegium</i>	59
Figure 28. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huile de la <i>Mentha Spicata</i>	60
Figure 29. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huile de la <i>Mentha Rotundifolia</i>	60
Figure 30. Chromatogrammes de L'extrait d'acétate d'éthyle de la <i>mentha Rotundifolia</i>	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Dénomination des différentes espèces étudiées.....	5
Tableau 2. La classification botanique pour les trois espèces étudiées.....	6
Tableau 3. Composition chimique de l'HE de <i>Mentha pulegium</i>	9
Tableau 4. Composition chimique de l'HE de <i>Mentha Spicata L</i>	10
Tableau 5. Composition chimique de l'HE de la <i>Mentha Rotundifolia</i>	12
Tableau 6. Les différentes activités biologiques des constituants des HE.....	18
Tableau 7. Conditions opératoires GC.....	37
Tableau 8. Conditions opératoires GC/MS.....	38
Tableau 9. Les conditions opératoires optimisées pour l'analyse par HPL.....	38
Tableau 10. Gradient utilisé pour l'analyse par CLHP.....	39
Tableau 11. Vitesses de séchage des feuilles de différentes plantes.....	44
Tableau 12. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites.....	45
Tableau 13. Rendement en huiles essentielles des différentes Menthes	45
Tableau 14. Rendement des extraits de la <i>Mentha rotundifolia</i>	46
Tableau 15. Activité antioxydante (%) évaluée par le radical DPPH des huiles essentielles	47
Tableau 16. Activité antioxydante (méthode DPPH) des extraits exprimés en pourcentage de capture du radical (%CR)	48
Tableau 17. Activité antioxydante (méthode DPPH) des extraits exprimés en pourcentage de capture du radical (%CR).....	50
Tableau 18. Composition chimique de l'huile essentielle de la <i>Mentha pulegium</i>	51
Tableau 19. Composition chimique de l'huile essentielle de la <i>Mentha spicata L</i>	53
Tableau 20. Composition chimique de l'huile essentielle de la <i>Mentha Rotundifolia</i>	55
Tableau 21. Liste des étalons flavonoïdes utilisés.....	61
Tableau 21. Les polyphénols identifiés.....	62
Tableau 22. Diamètres des zones d'inhibitions.....	64

Introduction
générale

Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires.

L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaires des millénaires. Les plantes médicinales et aromatiques commencent à avoir beaucoup d'intérêts comme source potentielle de molécule naturelle bioactives, l'industrie pharmaceutique moderne elle-même s'appuie encore largement sur la diversité des métabolites secondaires végétaux pour trouver de nouvelles molécules aux propriétés biologiques inédites.

L'utilisation des huiles essentielles remonte aux plus anciennes civilisations : tout d'abord dans l'Orient et le Moyen Orient et par la suite au nord de l'Afrique et en Europe. Dans l'histoire moderne, les vertus thérapeutiques des huiles essentielles occupent une place de plus en plus importante. Aujourd'hui, elles sont très recherchées, car elles sont généralement dotées de propriétés biologiques intéressantes. L'évolution des propriétés phytothérapeutiques comme antioxydante et antimicrobienne demeure une tâche très intéressante et utile surtout en présence de beaucoup infection microbienne et la résistance des bactéries qui s'observe de plus en plus.

L'Algérie possède un patrimoine végétal très riche avec 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, reste peu étudié et très peu explorée sur le plan pharmacologique.

La valorisation des plantes médicinales de la flore nationale sera d'un grand apport pour l'industrie pharmaceutique Algérienne et aura un impact économique certain.

Pour notre part, nous avons choisi d'étudier trois espèces de genre *Mentha* (*Mentha pulegium*, *Mentha spicata* L et *Mentha rotundifolia*), en fixant comme principaux objectifs, l'étude de la cinétique de séchage des feuilles des trois plantes, l'extraction, l'analyse des huiles essentielles et les extraits secs de cette dernière (*Mentha rotundifolia*) ainsi que l'évaluation de leur activité antioxydante et antimicrobienne.

Notre étude est articulée autour de trois parties. La première est consacrée à la revue bibliographique. La deuxième présente les installations expérimentales et méthodes de calcul des différents paramètres. La discussion des résultats expérimentaux fera l'objet de la troisième partie.

Partie I

Revue Bibliographique

I. LES PLANTES MEDICINALES

I.1. Définition

D'après la X^{ème} édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne, dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses.

Elles portent sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites "sauvages" ou "de cueillette", puis en second les plantes cultivées. (**Bézanger-Beauquesne; 1986**).

- ✓ **Plantes spontanées :** elles furent les seules utilisées autrefois et représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché Algérien. Leur répartition dépend du sol et surtout du climat.
- ✓ **Plantes cultivées :** celles-ci assurent une matière première en quantité suffisante pour répondre aux besoins et les drogues recueillies sont homogènes du point de vue aspect et composition chimique. Autre avantage, et pas des moindres, toute confusion possible par la cueillette est ici exclue, ce qui permet aussi une récolte plus opportune.

I.2. Utilisation des plantes médicinales

Pendant longtemps, les plantes ont été utilisées uniquement en nature, sous forme de tisanes ou de poudres. Maintenant beaucoup sont présentées en gélules, mais il existe de nombreuses formes d'utilisation des plantes médicinales. Quelle que soit leur présentation, elles jouissent d'un regain d'intérêt largement suscité et entretenu par la publicité ainsi que par d'innombrables ouvrages de vulgarisation.

De plus en plus de plantes sont utilisées en mélange. Pour ces préparations, des règles de bonnes pratiques officinales ont été instaurées. De nombreux paramètres sont à respecter comme le nombre de plantes, les associations possibles, la saveur, ou encore le goût qui devra être adapté au client. L'âge du patient et son état devront également être pris en compte (**Chabrier ; 2010**)

I.3. Substances actives des plantes médicinales

Pour les médicaments à base de plantes, les matières premières peuvent être de natures variées et elles se présentent sous deux formes potentielles :

- ✓ **les plantes fraîches :** elles servent de base à la préparation des teintures mères, qui permettent à leur tour l'élaboration de médicaments homéopathiques.

- ✓ **les plantes sèches** : elles constituent la base des teintures officinales, des nébulisats, des extraits, mais aussi des poudres.

Les plantes médicinales doivent leur action à un ou plusieurs principes actifs que l'on peut analyser chimiquement et qu'il est indispensable de connaître pour comprendre comment elles agissent sur l'organisme. Parmi les différentes formes existantes, le principe actif peut se présenter sous différents aspects. Il est initialement sous forme de poudre, d'huile essentielle, d'extrait ou de teinture et constitue ce que l'on appelle une forme galénique (**Chabrier ; 2010**).

II. PRESENTATION DE LA MENTHE

II.1. Généralités

La menthe fait partie de Genre « *Mentha* » appartient à la famille des labiées ou lamiacées qui est l'une des plus importantes dans le monde végétal, elle comporte plus de 200 genres et 3500 espèces (**Talahagcha; 2008**). Originaires d'Europe et de l'Asie, cependant en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents les menthes se sont diffusées sur tout le globe jusqu'en Amérique du nord, en Australie, et aussi au Japon.

L'Algérie, de par sa position géographique, jouit de plusieurs facteurs de pédogenèse et de grandes variations climatiques auxquels s'ajoutent les ressources hydriques, tous favorables au développement des cultures intensives de la menthe (**Boukhatem;2010**).

Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires d'origine hybride, qui les relie (**Benayad; 2008**). Elles sont représentées par 18 espèces et environ 11 hybrides, qui se subdivisent en sous-espèces, formes, variétés, sous variétés, cultivars et sélections (**Sutour; 2010**).

Les menthes se plaisent sur un sol léger et humide, aiment avoir leurs racines à l'ombre et leurs tiges au soleil. Ce sont généralement des herbes vivaces, sont toutes caractérisées par une tige carrée, des feuilles persistantes opposées et dentées, et des racines longs stolons qui se développent sous terre et donnent naissance à de nouveaux pieds un peu partout aux alentours, Leur étalement est sans fin. Très odoriférantes en raison de l'huile essentielle qu'elles contiennent. Elle atteint une hauteur variant de quelques centimètres à près d'un mètre,

selon les espèces. En été, les fleurs regroupées en épis ronds ou allongés, de couleur lilas, blanche ou rose, attirent les abeilles (Anton; 2005).

Les feuilles et somites fleuries des menthes étaient utilisés dans des buts *thérapeutiques* au 16ème et 17ème siècle, Elle aurait des vertus digestives, carminatives, antiseptiques, toniques et stimulantes. Elle participerait à l'équilibre digestif et améliorerait le tonus général, actuellement elles sont employées dans plusieurs domaines.

Dans le domaine *alimentaire* : pour les préparations des crèmes, les chocolats, les bonbons, les pâtes à mâcher, les desserts, etc.

En *parfumerie et cosmétique*, les produits à base de menthe ont connu un développement spectaculaire avec les pâtes dentifrices, bain de bouche, crèmes, rouges à lèvres, mousses à raser (El Fadl; 2010).

Au sein du Genre *Mentha* ; on cite la *menthe verte*, la *menthe pouliot* et *menthe à feuilles rondes* ; trois espèces très répandues en Algérie et qui font l'objet de notre présente étude, leur dénomination est représenté dans le tableau 1.

Tableau 1. Dénomination des différentes espèces étudiées

Nom scientifique	<i>Mentha spicata L</i>	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha rotundifolia</i>
Nom français	Menthe verte	Menthe pouliot	Menthe rotundifolia
Nom arabe/kabyle	Naâna	Fliou / Felgou	Timarssat / Thimja
Synonymes	Menthe douce.	Herbes de saint.	Menthe à feuilles
	Menthe romaine.	Laurent.	rondes. Baume sauvage.
	Menthe baume.	Herbes aux puces.	Menthe de cheval.
	Menthe crépue.	Petit baume.	Menthe sauvage.
	Menthe vraie.		

II.2. Etude botanique

II.2.1. Classification botanique des plantes

La systématique des trois espèces (*mentha pulegium*, *mentha spicata L* et *mentha rotundifolia*) est représentée dans le tableau 2 ci-dessous :

Tableau 2. La classification botanique pour les trois espèces étudiées

	<i>Menthe pouliot</i>	<i>Menthe verte</i>	<i>Menthe à feuilles rondes</i>
Règne	Végétal	Végétal	Végétal
Embranchement	Spermaphytes.	Spermaphytes.	phanérogames
Sous-embranchement	Angiospermes	Angiospermes	Angiospermes
Classe	Dicotylédones	Dicotylédones	Dicotylédones
Sous-classe	Dialypétaes	Dialypétaes	gamopétales
Famille	labiées, lamiacées	labiées, lamiacées	labiées, lamiacées
Genre	Mentha	Mentha	Mentha
Espèce	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha spicata L</i>	<i>Mentha rotundifolia</i>

II.2.2. Propriétés des plantes

II.2.2.1. Mentha pulegium

a. Origine et répartition géographique

Au départ, elle était d'origine méditerranéenne. Aujourd'hui, elle est répandue aussi en Europe de l'Ouest, du Sud et centrale, aux canaries et à l'ouest de l'Asie, ainsi qu'en Amérique. *M. pulegium*, est connue sous le nom de « menthe pouliot ». Le nom de « pouliot » vient du latin *pulegium*, qui dérive de *pulex* : la puce ; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. Elle est fréquente dans les milieux humides, elle pousse sur des sols sablonneux, et acides, mais est très sensible au gel (Anton; 2005). Elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. Malgré son utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, son intérêt économique demeure limité.

- **Principaux pays producteurs** : Les Etats Unis, le Maroc et l'Espagne.
- **Principaux pays exportateurs** : Les parties aériennes sont peu commercialisées alors que l'huile essentielle est exportée par les Etats Unis (Boukenna et Bouzidi ; 2007).

b. Description botanique

La menthe pouliot est une plante vivace aromatique, fertile. La tige est dressé, ramifiée, quadrangulaire et rougeâtre. Elle peut atteindre jusqu'à 30-40cm de hauteur. Les organes d'élaboration de l'huile essentielle de cette plante sont les cellules épidermiques des feuilles et des fleurs qui évoluent en glande sécrétrice où s'accumule l'huile.



Figure 1. *Mentha pulegium* (Menthe Pouliot)

c. Propriétés et emplois

Cette espèce est une plante à propriétés antispasmodiques et toniques. Elle stimule le système nerveux à faible dose et à forte dose elle devient convulsivante.

La menthe pouliot figure parmi les plantes les plus communément utilisées en médecine traditionnelle. Elle stimule les sécrétions gastriques, réduit les flatulences et les coliques, et combat les fermentations. C'est l'une des meilleures boissons digestives, bénéfiques en particulier à ceux qui souffrent d'insuffisance hépatique, et élimine les vers intestinaux. Elle fait baisser la fièvre, favorise la sécrétion des muqueuses et constitue un bon remède contre maux de tête et les infections respiratoires bénignes. En infusion, la menthe pouliot apaise les démangeaisons et la sensation de picotement, les inflammations cutanées, tel l'eczéma, et le rhumatisme et la goutte. En plus elle est utilisée contre les maladies des yeux (éclaircir la vue) ; et contre les taches de rousseur. **(Talahagcha et Kassa ; 2008).**

Cette plante a un pouvoir insecticide, elle lutte contre les poux, les moustiques et les puces. Elle protège, rafraichit et nettoie la peau (lorsqu'elle est ajoutée à l'eau du bain) **(Guy; 2005).**

Les feuilles de la menthe pouliot confites ou séchées sont particulièrement appropriées pour parfumer et décorer les plats, les sauces et les soupes, Elle est aussi utilisée pour préparer les tisanes. Le pouliot est surtout employé pour parfumer les savons, les détergents, ainsi que les dentifrices. **(Boukenna et Bouzidi ;2007)**

d. Composition chimiques : (Guy;2005)**Tableau 3.** Composition chimique de l'HE de *Mentha pulegium*

Hydrocarbures terpéniques		Alcools	
β -phellandréne	trace à 2%	Néomenthol	0 à 1,5%
Limonène	0,4 à 1%	α -terpinéol	0 à 1,4%
Cétones		Esters	
Menthone	0,1 à 30,8%	Acétate de néoisomenthyle	0 à 2,5%
Iso-menthone	1,9 à 25,4%	Acétate de menthyle	/
Pipéritone	0,4 à 87%	Autres composés	
Pulégone	36 à 74,4%	Menthofurane	0 à 0,8%
Pipériténone	0 à 2,5%	Acétate de linalyle	/

e. Toxicologie

L'emploi des parties aériennes de la menthe pouliot en qualité de condiment et aux doses usuelles, ne présente aucun risque de toxicité ni aigue, ni chronique. L'HE est hépatotoxique à cause de sa teneur en pulégone. Des intoxications ont en effet été observées après ingestion de 5 g d'essence et des cas mortel sont signalés après absorption de 30 ml. L'emploi de la menthe pouliot pour la préparation de tisane d'agrément n'est pas recommandé (Anton, 2005)

II.2.2.2 Mentha spicata L**a. Origine et répartition géographique**

L'origine de la menthe verte est inconnu mais il s'agit probablement d'un hybride issu de *M. longifolia* et de *M. suaveolens* (Anton; 2005) ; elle est cultivées exclusivement aux USA, en Angleterre, en Hollande ainsi qu'en Afrique du nord (Algérie, Maroc...), dans beaucoup de jardins et en culture industrielle . La menthe verte supporte les endroits ombragés, elle n'est pas très exigeante pour la qualité du sol. (Anton, 2005).

b. Description botanique

Cette espèce est une plante herbacée vivace de 25 à 75 cm de long, à tige rameuses quadrangulaires droites, munies de feuilles lancéolées de 3 à 5 cm de long et de 1 à 2 cm de large presque sessiles, vert sombre.

Les fleurs en verticilles sont rosées ou lilas ; groupées en étroits ; allongés aigus. Ses stolons sont souterrains (Ait-Ouahioune ; 2005).



Figure 2 : *Mentha spicata L* (Menthe verte)

c. Propriétés et emplois

Les effets bénéfiques de la menthe verte sont très nombreux ; elle agit comme stomachique, tonique, stimulant digestif, analgésique, diurétique, carminative, antispasmodique ... Les feuilles fraîches s'utilisent en cuisine: sauce, salades, thé, infusion. L'huile essentielle est utilisée à grande échelle dans l'industrie alimentaire pour la préparation de sucreries, boissons: sirops. Elle sert également pour parfumer les produits d'hygiène buccale, les dentifrices (Anton; 2005).

d. Composition chimique: (Guy; 2005)

Tableau 4. Composition chimique de l'HE de *Mentha Spicata L*

Hydrocarbures terpéniques		Alcools	
Myrcène	0,7 à 2,5%	Menthol	0,2%
Limonène	5 à 11,4%	Linalol	0,1 à 0,8%
Germacrène D	0,1 à 4,1%	α -terpinéol	0,2 à 2,7%
β -pinène	0,3 à 0,7%	4-terpinéol	0,2 à 2,7%
α -pinène	0,2 à 0,6%	Dihydrocarvéol	1,2 à 5,9%
β -caryophyllène	0,1 à 1,6%	Néodihydrocarvéol	1,6 à 3,9%
		Cis-carvéol	0,3 à 2,4%

Cétones		Alcools	
Cis-dihydrocarvone	1,9 à 3,5%	Trans-carvéol	0,5 à 2,3%
Carvone	39,1 à 69,9%	Ethers	
Esters		1,8-cinéole	1 à 3,4%
Acétate de dihydrocareveyl	1,4 à 3,5%	Composé soufré	/
Acétate de trans-carveyle	0,7 à 5,9%	Menthe sulfure	Traces
Acétate de cis-carveyle	2%		

e. Toxicologie

Aux doses usuelles, la consommation de la menthe douce à des fins culinaires ou comme boisson aromatique ne présente aucun risque de toxicité aiguë ni chronique. Son potentiel de sensibilisation est très faible (**Anton, 2005**).

II.2.2.3. *Mentha rotundifolia*

a. Origine et répartition géographique

La *Mentha rotundifolia* est une plante vivace que l'on trouve fréquemment au bord des chemins, dans les fossés ou autres lieux humides. Elle se rencontre dans toute la méditerranée sauf Chypre et l'Europe. (**Hadouche; 2010**)

b. Description botanique

Cette espèce est une plante vivace vigoureuse de 25 à 80 cm de hauteur. Elle ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses et ridées. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher ; comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle la pomme.

La tige typique des labiées, dressée couverte d'un duvet épais ; rhizome ramifié est à section carrée. Les feuilles sessiles, ovales à presque rondes, au plus 4,5 cm de long et 3 cm d'épaisseur de couleur vert vif et légèrement duveteuses. Les fleurs blanches ou mauves claires de 5 mm de long sont rassemblées en épis terminant les rameaux (**Bézanger-Beauquesne ; 1986**).



Figure 3. *Mentha rotundifolia* (menthe à feuilles rondes)

c. Propriétés et emplois

La *Mentha rotundifolia* possède des effets sédatifs, myorelaxants, anticonvulsivants et non toxique aux doses thérapeutiques, c'est ce qui ressort des travaux réalisées sur une batterie de tests utilisés en psychopharmacologie par des scientifiques (**Hadouche; 2010**)

Dans la pharmacopée traditionnelle, elle est utilisée comme analgésique en infusion, compression. Antiseptique en infusion (voies respiratoire et digestives) et bactéricides pour purifier l'eau. Elle est utilisée contre la grippe et le rhume, contre la nausée, contre les maux de dents, piqûres d'insectes rafraichissant (**Brada ; et al 2007**).

En Algérie les feuilles et tiges sont consommées généralement en décoction par voie orale contre les troubles et les coliques digestives, contre le vertige et le refroidissement et les feuilles séchées sont employées comme laxatif

Elle est également utilisée en culinaire dans les boissons (alcools, liqueur, sirop, vinaigre), les condimentaires (grillades, salade, accompagnement des viandes, des légumes), les desserts (accompagnement des fruits, glaces, aromatise les confitures), les sauces et les pains. Son feuillage frais ou sec est également utilisé pour aromatiser le thé (**Hadouche; 2010**).

d. Composition chimique

Tableau 5. Composition chimique de l'HE de la *Mentha Rotundifolia* (Benayad; 2008)

Composé	Pourcentage (%)
Menthone	3,34
Pulégone	17,61
Pipéritone	9,18
Pipéritène	33,03

e. Toxicologie

Aux doses usuelles, la consommation de ses parties aériennes à des fins culinaires ou pour préparer des boissons d'agrément, ne présente aucun risque de toxicité. (Anton; 2005)

II.3. Les Huiles essentielles

II.3.1. Définition

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de substances odorantes et volatiles contenues dans les végétaux (AFNOR ; 1998), ce sont des produits obtenus d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécanique à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation sèche. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques pour les deux premières modes d'obtention ; elle peut subir des traitements physiques n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. (Brueton; 1999).

II.3.2. Emplois des huiles essentielles

a. En pharmacie

Les drogues à l'huile essentielle peuvent être utilisées:

- Pour leur action Physiologiques:
 - en nature (Menthes, Verveine, Camomille)
 - pour l'extraction de l'essence : l'usage est externe ou interne
- Pour l'isolement de certains constituants: eugénol, anéthole, pinènes,...
- Comme excipients de nombreux médicaments : adjuvants ou aromatisants. (Brueton; 1999).

b. Dans l'industrie

- Parfumerie et cosmétologie: de nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines huiles essentielles constituent des " bases " de parfums irremplaçables exemple: Rose, Jasmin,...
- Alimentation: les HE sont très utilisées comme aromatisants des aliments (jus de fruits, pâtisserie) (**Brueton; 1999**)

II.3.3. Localisation des huiles essentielles

Les HE sont largement réparties dans le règne végétal ; certaines familles en sont particulièrement riches (labiées).

Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux: sommités fleuries (Menthe), écorces (cannelier), racines (vétiver), rhizomes (gingembre), fruits (Anis, fenouil, badianier)... dans une même plante, elles peuvent être présentes à la fois dans différents organes; la composition des essences peut alors varier d'un organe à l'autre.

Les essences peuvent être localisées dans des cellules sécrétrices isolées (Lauracées), mais on les trouve le plus souvent dans des organes sécréteurs : poche sécrétrices schizogènes (rutacées), canaux sécréteurs (conifères, ombellifères), poils sécréteurs (labiées, composées) (**Brueton; 1999**)

II.3.4. Propriétés physico-chimiques des huiles essentielles

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physico-chimiques :

- Ce sont généralement des liquides à la température ordinaire.
- Leur volatilité les oppose aux « huiles fixes » à cette volatilité des huiles essentielles sont liés leur caractère odorant et la possibilité de les obtenir par entraînement à la vapeur d'eau.
- Elles sont généralement incolores ou jaune pâle quand elles viennent d'être préparées. Il existe cependant quelque exception comme l'huile essentielle à azulène, de coloration bleue.
- Leur densité est, le plus souvent, inférieure à l'unité, seules trois huiles essentielles officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau : ce sont les huiles essentielles de cannelle, Giroflier, de Sassafras.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées de pouvoir rotatoire.

- Peu soluble dans l'eau, elles lui communiquent cependant leur odeur ; elles sont solubles dans les alcools de titre élevés, solubles dans les huiles fixes et dans la plus part des solvants organiques.
- Elles sont très altérables, sensible à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Elles ont tendance à se polymériser en donnant lieu à la formation de produits résineux, elles sont de conservation limitée. (Paris, Hurabielle ; 1986)

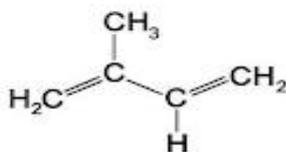
II.3.5 Composition chimique des huiles essentielles:

La composition chimique d'une huile essentielle est assez complexe on y trouve généralement de nombreux constituants. Ceux-ci appartiennent principalement à deux grands types chimiques:

- les composés terpéniques.
- les composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

a. Composés terpéniques

Les terpènes sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou de chaîne ouverte. (Hernandez-ochoa; 2005). La formule brute générale est $(C_5H_8)_n$, ils sont formés d'unités isopréniques (C_5H_8 ; avec $n = 1$)



Isoprène

Ils comprennent

- Les monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)
- Les sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)
- Les diterpènes ($C_{20}H_{32}$)
- Les sesterpènes ($C_{25}H_{40}$)
- Les triterpènes ($C_{30}H_{48}$)

Différents types de terpènes peuvent être rencontrés dans les huiles essentielles, on trouve surtout des monoterpènes, quelques sesquiterpènes, rarement des diterpènes. Ces terpènes peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques (Paris, Hurabielle ; 1986).

b. Composés aromatiques dérivés du phénylpropane

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques plus particulièrement des composés "phenylpropanoïdes". Parmi les divers composés aromatiques dérivés du phénylpropane présents dans les huiles essentielles, on peut citer:

- L'acide et l'aldéhyde cinnamiques (essence de cannelle).
- L'eugénol (essence de Girofle).
- L'anéthole et l'aldéhyde anisique (huile essentielle de Badiane, D'anis et de Fenouil)
- le safrole (huile essentielle de Sassafras). (Paris, Hurabielle ; 1986)

c. Les composés d'origines diverses

Selon le mode de récupération utilisé, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînable lors de l'hydrodistillation tels que: les carbures (linéaires et ramifiés, saturés ou non), acides (C3 à C10), alcools, aldéhydes, esters acycliques, lactones (Brueton; 1999)

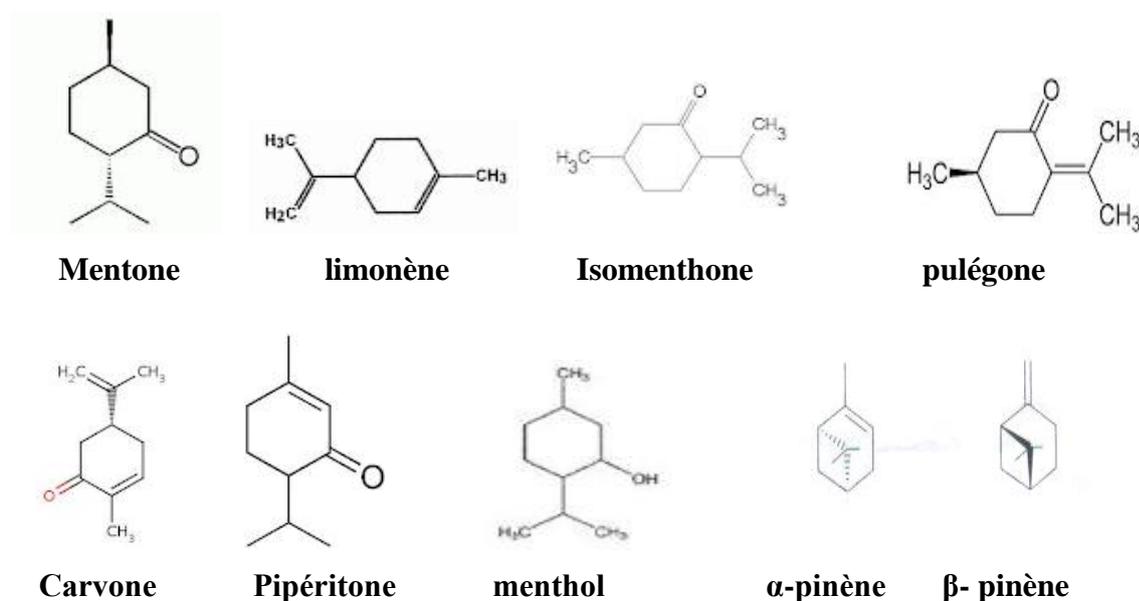


Figure 4. Structures chimiques des composées rencontrées dans les huiles essentielles.

II.3.6 Les facteurs influençant la composition des huiles essentielles

Il existe beaucoup de facteurs externes pouvant influencer la composition chimique et le rendement de l'huile essentielle.

La température, le taux d'humidité, la durée d'ensoleillement, la composition du sol sont autant des facteurs d'ordre environnemental susceptibles d'exercer des modifications chimiques (Piochon; 2008) et aussi, le génotype, l'origine géographique, la période de récolte, le séchage, le lieu de séchage, la durée de séchage, les parasites, les virus et les

mauvaises herbes. Ainsi, l'action des huiles est le résultat de l'effet combiné de composés actifs et inactifs, les composés inactif pourrait influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique (**Mohammedi; 2006**). Ajouter à la complexité des huiles volatiles, la différence des constituants d'une huile essentielle au sein d'une même espèce de plante.

La composition de l'huile essentielle des divers individus peut présenter des profils chimiques ou chémotypes différents qui présenteront non seulement des activités différentes mais aussi des toxicités très variables (**Piochon; 2008**).

II.3.7. La toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que leur utilisation de plus en plus populaire tend à se généraliser avec l'émergence de nouvelles pratiques thérapeutiques telle que l'aromathérapie (**Piochon; 2008**).

a. Toxicité aiguë

Les huiles essentielles en générale ont une toxicité aiguë par voie orale faible ou très faible: la majorité de celles couramment utilisés ont une DL₅₀ comprise entre 2 et 5g /kg (anis, eucalyptus, girofle,) ou ce qui est le plus fréquent, supérieur à 5g/kg (camomille, lavande) D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux (**Brueton; 1999**).

b. Toxicité chronique

La toxicité chronique des huiles essentielles est assez mal connue, au moins en ce qui concerne leur utilisation dans le cadre de pratique comme l'aromathérapie (**Piochon; 2008**).

c. Toxicité dermique

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde) ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines)(**Paris, Hurabielle ; 1986**)

d. Cancérogénicité

Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers. C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (*Sassafras*), l'estragole (*Artemisia dracuncululus*), le β -asarone (*Acorus calamus*) et le méthyl-eugénol (**Piochon; 2008**).

III. LES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. (Touafek. ; 2010).

III.1. Structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavane (Kebieche ; 2009).

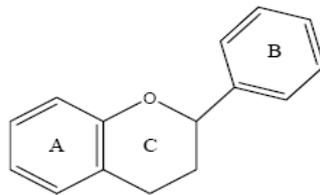


Figure 5. Structure chimique du flavane

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). (Elicoh-Middleton et al ; 2000).

III.2. Localisation et distribution des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont largement rencontrés dans le règne végétal, mais rares chez les végétaux inférieurs. En effet, les flavonoïdes sont omniprésents dans les organes aériens jeunes où ils sont localisés dans les tissus superficiels. Au niveau cellulaire, les flavonoïdes sont sous forme d'hétérosides, sont dissous dans le suc vacuolaire ou localisés dans les chloroplastes et les membranes des végétaux. Ils sont largement abondants dans les légumes feuilles (salade, choux, épinards, etc.), ainsi que dans les téguments externes des fruits. On les trouve principalement dans les agrumes : citrons, orange, pamplemousses et dans une moindre mesure : abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, tomates et sarrasin. On en trouve également en quantité importante dans de nombreuses plantes médicinales.

III.3. Activités biologiques des flavonoïdes

De nos jours les flavonoïdes sont largement étudiées , on leur reconnaît des activités biologiques et pharmaceutiques divers : anti-inflammatoire ; antioxydantes ; inhibitrices d'enzymes et prévention des maladies cardiovasculaires (**Kebieche ; 2009**).

IV. ACTIVITES BIOLOGIQUES

La diversité des constituants présents dans les huiles essentielles entraine des activités physiologiques variées. Les différentes activités biologiques des constituants des huiles essentielles sont résumées dans le Tableau 6.

Tableau 6. Les différentes activités biologiques des constituants des HE (**Mebareki; 2010**)

Famille	activité biologique
Hydrocarbures aliphatique Monoterpènes	Fongistatique, bactériostatique, insecticide, herbicide, stimulation générale.
Sesquiterpènes	Calmant, anti-inflammatoire, anti -allergique, antibactérien et antifongique.
Phénols	antioxydant, stimulants, toniques, antiseptiques, bactéricides, fongicides, antivirale, irritants, antiparasitaire.
Alcool monoterpéniques	Anti- inflammatoire, antiseptique, bactéricides, fongicides, antiviral, immuno-stimulants, neurotoniques.
Alcool sesquiterpéniques	Tonique et stimulants généraux ,décongestionnants veineux et lymphatiques.
Cétones	Calmant, antivirales, antifongiques, neurotoxiques, dépresseurs à doses élevées

IV.1. Activité antioxydante

IV.1.1. L'oxydation.

L'oxydation fait partie d'une réaction d'oxydoréduction qui transfère des électrons d'une substance vers un agent oxydant. Bien que les réactions d'oxydation soient nécessaires à la vie, elles peuvent aussi produire des radicaux libres qui entraînent des réactions en chaîne destructrices (**Hamzaoui; 2010**). Les radicaux libres sont générés naturellement au cours du métabolisme normal de l'oxygène in vivo en très faible quantité mais peuvent être libérés suite à un stress oxydatif (**Delattre; 2005**).

IV.1.2. Stress oxydatif

Le stress oxydatif est le déséquilibre entre la génération des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et la capacité du corps à les neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire.

La production des ERO est normale pour tous les organismes vivants et ne constitue pas en soi une situation de stress oxydant. Cette production physiologique est parfaitement maîtrisée par des systèmes de défense contre les radicaux libres (ERO), la cellule dispose d'un système de détoxification comprenant des enzymes comme les superoxydes dismutases, les catalases, la glutathion peroxydase, la glutathion réductase et de petites molécules telles que la vitamine E, la vitamine C, les caroténoïdes, certains polyphénols et les huiles essentielles.... Si tel n'est pas le cas, que ce soit par déficit en antioxydant ou par suite d'une surproduction des radicaux, l'excès de ces radicaux est appelé « stress oxydant». (**Hamzaoui; 2010**)

IV.1.3. Radicaux libres et leur origine

Le radical libre est une espèce chimique possédant un électron célibataire sur sa couche périphériques .Ce sont des dérivés instables, incomplètes et toxiques de l'oxygène qui peuvent se retrouver dans l'organisme et qui tentent de s'accoupler à des éléments de nos propres cellules afin de se compléter (anonyme), ils réagissent et dégradent l'ADN, les lipides, les protéines, ils détruisent alors des cellules saines (**Delattre; 2005**).

La formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et indissociable de la vie dans une atmosphère oxydante, mais les excès dépendent de facteurs extérieurs.

- Ils sont produits par divers mécanismes physiologiques afin de détruire des bactéries au sein des cellules phagocytaires ou pour réguler des fonctions cellulaires létales telles que la mort cellulaire programmée.
- le contact entre l'oxygène et certaines protéines du système respiratoire, induit une production d'anions superoxydes nécessaire pour le fonctionnement de la chaîne respiratoire mitochondriale.
- L'inflammation est une source importante de radicaux oxygénés produits directement par des cellules phagocytaires activées.
- Des sources importantes de radicaux libres sont les mécanismes de cycles redox que produit l'oxydation des molécules comme les quinones dans l'organisme.
- L'ingestion d'alcool est suivie de la formation de radicaux libres selon divers mécanismes, c'est également le cas des antibiotiques et des anticancéreux.

- L'infection au virus d'immunodéficience humaine (VIH) a pour effet d'accroître la production des radicaux libres dans l'organisme.

Certaines maladies génétiques causent une surproduction de radicaux libres ou une efficacité réduite du système de défense. Une surproduction de radicaux libres a été observée lors des maladies d'Alzheimer et de Parkinson (**Hamzaoui ; 2010** et **Delattre; 2005**).

IV.1.4. Antioxydant

Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs (enzymes, protéines, oligo éléments), ils sont produits par l'organisme, mais aussi apportés par notre alimentation. Parmi de bons capteurs de radicaux libres on trouve les HE soufrés, contenant des aldéhydes mono et di terpéniques, des dérivés des aldéhydes benzéniques et cinnamiques, des mono phénols (eugénol) qui peuvent former des hémiquinones relativement stable. Ce sont surtout les phénols et les polyphénols qui sont responsables de ce pouvoir. (**Haddouche, 2008**)

a. Les antioxydants endogènes

Sont capable soit de maintenir les espèces réactives de l'oxygène à des concentrations quasi stationnaires soit de piéger ces espèces (antioxydants non enzymatiques).

b. Les antioxydants naturels

La vitamine E: capable d'une part de piéger chimiquement l'oxygène singulet (O_2) en s'oxydant en quinone, d'autre part, de réagir avec le radical hydroxyle (OH).

La vitamine C: c'est un piègeur très efficace des anions superoxydes, du peroxyde d'hydrogène et de l'oxygène singulet.

La Caroténoïdes: leur rôle protecteur dans les systèmes biologiques implique la désactivation d'espèces électroniquement activées telles l'oxygène singulet O_2 et la désactivation d'espèces chimiques réactive telles les radicaux peroxydes $ROO\bullet$ et alkyles $R\bullet$, qui peuvent être générés à l'intérieur des cellules et occasionner des dommages oxydatifs.

Le Zinc: le Zinc joue un rôle antioxydant indirect en assurant la stabilisation de la Cu-ZnSOD, cependant il possède d'autres propriétés antioxydantes dont le mécanisme précis est encore incomplètement connu.

Le Sélénium: joue un rôle dans la protection des cellules et de leurs constituants contre l'attaque radicalaire, le maintien de l'intégrité membranaire réduit la probabilité de propagation de lésions oxydative à des biomolécules. (**Delattre; 2005**).

IV.1.5. Détermination de l'activité antioxydante

La diversité de la nature et la complexité des composés phytochimiques des extraits de plante imposent l'élaboration de plusieurs de méthodes pour évaluer l'activité antioxydante et pour estimer l'efficacité de ces substances, et parmi les plus utilisées est celle de piégeage du radical libre DPPH.

Le test DPPH

Le DPPH est un radical libre stable, avec une absorption maximale de 515 à 518 nm. La structure de DPPH est indiquée dans la figure ci-dessous:

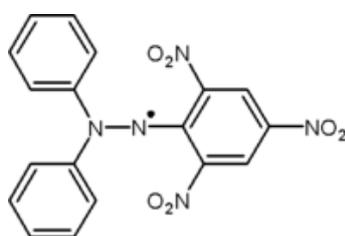


Figure 6. Structure du 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH[•]. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH[•] de coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. La mesure de la décroissance de coloration violette au cours du temps permet de déterminer l'IC₅₀, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue. Généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (IC₅₀), (des comparaisons d'IC₅₀ sont réalisées), le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox (une molécule de référence, analogue structural hydrosoluble de la vitamine E).

Cette méthode est généralement utilisée pour étudier et mesurer la capacité antioxydante totale des extraits végétaux et alimentaires. Le mécanisme de réaction est illustré dans le diagramme ci-dessous : où AH est l'antioxydant et R[•] est le radical libre:

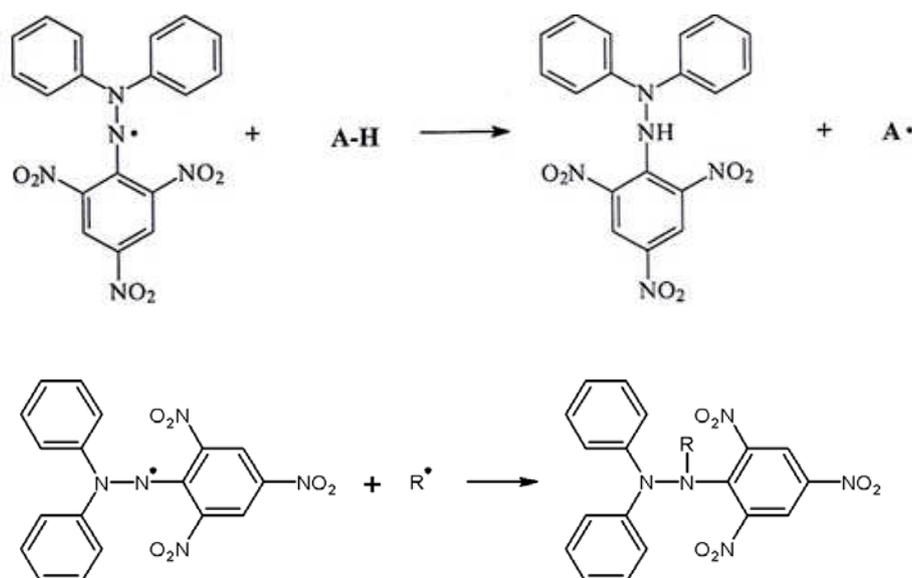


Figure 7. Mécanisme de réaction.

IV.2. Activité antimicrobienne

Les qualités antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20^{ème} siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Ces propriétés antimicrobiennes sont dues à la fraction d'huile essentielle contenue dans les plantes. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums. (Haddouche; 2008)

IV.2.1. Les propriétés antimicrobiennes importantes

Certaines espèces microbiennes pathogènes, sont de moins en moins sensible aux antibiotiques et développent des résistances multiples à ces derniers. L'usage des huiles essentielles grâce a leur forte action antimicrobienne développée depuis plus d'une vingtaine d'année, constitue un sérieux substitue au traitement par les antibiotiques dans les pathologies infectieuses.

Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large puisqu'elles inhibent aussi bien la croissance des bactéries que celles des moisissures et des levures. Leur activité antimicrobienne est principalement en fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs, parmi ces composés chimiques ayant une efficacité à large spectre antibactériennes et antifongiques sont les phénols, les aldéhydes, les alcools et les cétones terpéniques. Pour les terpènes les avis divergent encore. (Haddouche; 2008).

IV.2.2. Mode d'action contre les bactéries

D'une manière générale, l'action des huiles essentielles se déroule en trois phases :

- * Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- * Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- * Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (**El- Kalamouni; 2010**).

V. PROCÉDES D'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

Le procédé d'obtention d'une essence végétale intervient de façon déterminante dans la nature des produits d'extraction. Plusieurs procédés d'extraction des principes végétaux sont connus et utilisés à ce jour, dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation sont les plus employés à l'échelle industrielle pour la production des huiles essentielles (**Wang; 2008**)

V.1. Procédés mettant en jeu la vapeur d'eau

Ces procédés sont basés sur le fait que la plupart des composés odorants volatiles (huiles essentielles) sont susceptibles d'être entraînés par des vapeurs d'eau du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe. Ils ne sont donc ni retenus, ni solubles dans l'eau.

Il existe deux types de procédés : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (**Hamzaoui; 2010**)

V.1.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger directement la matière végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide, l'huile essentielle se sépare par différence de densité et ensuite récupérée après décantation (**Bruneton; 2008**)

La phase aqueuse contenant les composés hydrosolubles est appelée hydrolat (ou petite eau) et elle peut servir à la fabrication des eaux florales (**Sutour; 2010**).

V.1.2. L'entraînement à la vapeur

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée à travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure de cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant.

Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations. (Marzouk; 2006)

V.2. L'extraction par solvant organique volatil

Elle est réservée aux huiles essentielles non volatiles ou peu entraînaibles à la vapeur d'eau, elle est basée sur l'épuisement de la plante de ses constituants odorants au moyen d'un solvant sélectif, le solvant chargé est récupéré par évaporation sous vide, pour éviter la dégradation thermique des molécules odorantes. (Bengacemi; 2005)

Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques : sélectivité, stabilité, inertie chimique, température d'ébullitions pas trop élevée pour permettre son élimination totale, pas trop faible pour éviter les pertes et donc une élévation des coûts; sécurité de manipulation (si possible non toxique et non inflammable) (Bruneton; 1999)

VI. METHODES D'ANALYSE

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques :

VI.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou CG)

La chromatographie en phase gazeuse est une méthode de séparation et d'analyse, appliquée au gaz et aux composés liquides ou solide à l'état vapeur. Elle est préférentiellement utilisée dans le cas des molécules volatiles comme celles qui sont présentes dans les huiles essentielles. (Sutour; 2010)

VI.1.1. Principe de fonctionnement:

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon (de 1 à 10 μ l), sous forme liquide ou gazeux, dans l'injecteur, qui a la double fonction de le porter à l'état de vapeur et de l'amener dans le flux gazeux en tête de la colonne. Cette colonne est placée dans une enceinte à température régulée (Rouessac et Rouessac; 2009).

Les solutés à l'état gazeux sont transportés par le gaz vecteur le long de la colonne où ils se solubilisent dans la phase stationnaire liquide. Si la phase stationnaire est bien choisie,

ces solutés vont être inégalement retenus, ce phénomène appelé rétention. Les constituants du mélange sortent l'un après l'autre du fait de leur différence de déplacement dans la colonne. Le temps de séjour du soluté dans la colonne est appelé temps de rétention.

A la sortie de la colonne, se trouve un détecteur qui émet un signal chaque fois qu'un soluté sort. Le signal produit est proportionnel à la quantité de chaque substance. Ce signal est amplifié, reproduit sur l'enregistreur et évalué à l'aide d'un intégrateur ou d'un ordinateur.

L'identification des constituants peut être réalisée par la comparaison des indices de rétention de Kovats calculés des essences à ceux des étalons purs injectés ou trouvés dans la littérature. (Tranchant; 1995)

VI.1.2. Appareillage

Un appareil de CPG réunit dans un bâti unique, outre les trois modules classiques, injecteur, colonne et détecteur, un four thermostaté qui permet de porter, si nécessaire, la colonne à une température élevée. La phase mobile qui entraîne l'échantillon dans la colonne est un gaz, appelé gaz vecteur (Rouessac et Rouessac; 2009).

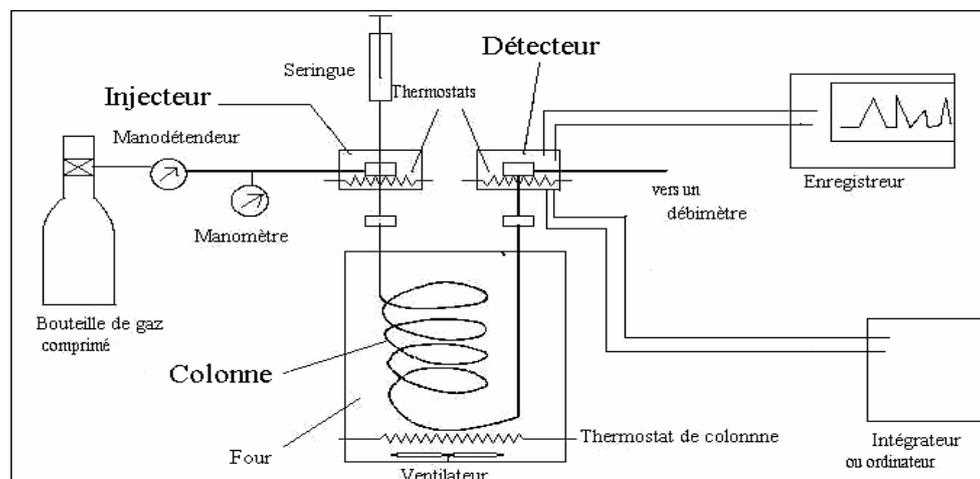


Figure 8. Appareillage de la chromatographie en phase gazeuse

a. Gaz vecteurs

Le gaz vecteur (phase mobile) peut être de l'hélium, le diazote, le dihydrogène ou de l'argon; son choix dépend des facteurs tels que la disponibilité, la pureté, la consommation et le type de détecteur utilisé. (Mendham; 2008)

b. Injecteur

L'injecteur est la porte d'entrée de l'échantillon dans le chromatographe. Il a deux fonctions : vaporiser et entraîner en tête de colonne l'échantillon mélangé au gaz vecteur. Les caractéristiques des injecteurs, ainsi que les modes d'injection diffèrent suivant les types des colonnes auxquels ils sont réunis. de la manière dont est pratiquée l'injection, de sa rapidité, dépend la qualité de l'analyse (**Rouessac et Rouessac; 2009**).

c. Colonne

La séparation des constituants de l'échantillon se fait dans la colonne; la nature du support solide, le type et la qualité de phase liquide, la méthode de remplissage, sa longueur et sa température sont des facteurs importants pour obtenir la résolution voulue. La colonne est placée dans un four fermé à thermostat (enceinte thermostatée) pour maintenir la température constante et pour que les conditions soient reproductibles. La température peut être choisie dans une gamme allant de la température ambiante jusqu'à plus de 400°C et, pour une opération isotherme, être maintenue constante au cours du processus de séparation. (**Mendham; 2008**).

Il existe deux types de colonnes :

- Les colonnes remplies (colonnes classiques): A ce jour, les colonnes remplies sont des tubes en verre, en métal (acier inoxydable, cuivre, aluminium) ou en téflon qui ont généralement 2 à 3 m de long et 2 à 4mm de diamètre. (**Skoog; 2002**)
- Les colonnes capillaires (colonnes tubulaires ouvertes) : leur diamètre interne est en général de 0.25 ou 0.50 mm et leur longueur peut aller jusqu'à 100m (**Browning; 1971**)

d. Détecteur

Le détecteur est placé à la sortie de la colonne de séparation, sa fonction est de détecter et de mesurer, après séparation, la présence de petites quantités des constituants dans l'éluant de la colonne.

On distingue deux types de détecteurs :

- Les détecteurs universels : qui sont sensible pratiquement à tous les composés (par exemples les détecteurs à conductivité thermique, les détecteurs à ionisation de flamme).
- Les détecteurs spécifiques: qui ne sont sensible qu'à certains composés (par exemples les détecteurs à photométrie de flamme, les détecteurs thermoionique). (**Rouessac et Rouessac; 2009**)

VI.1.3. Les grandeurs de rétention

a. Le temps de rétention (t_r)

C'est le temps qui s'écoule entre l'instant de l'injection de l'échantillon et l'apparition d'un pic de soluté sur le détecteur d'une colonne chromatographique (**Skoog; 2002**).

Le temps de rétention est indépendant de la quantité injectée, de la nature et de l'abondance des autres constituants, de la nature du gaz vecteur. Il dépend de la température de la colonne et du couple soluté/phase stationnaire. (**Tranchant; 1995**).

Le temps de rétention est donné par la relation suivante :

$$t_r = d_r / V_{\text{papier}}$$

t_r : temps de rétention.

d_r : distance entre le point de l'injection et le sommet de pic.

V_{papier} : Vitesse de déroulement de papier de l'enregistreur.

b. Indice de rétention :

Il a été introduit par Kovats en 1958 dans des conditions isothermes, puis par Van Den Dool et Kratz pour la programmation de température ; il est basé sur le fait que la température de rétention et le temps de rétention varient linéairement avec le nombre de carbone dans une série homologue. (**Hamzaoui; 2010**). Il est donné par la relation:

$$I_x (\%) = 100z + 100n [(t_r(x) - t_r(z)) / (t_r(z+n) - t_r(z))]$$

$t_r(x)$: Temps de rétention du soluté (x) étudié.

$t_r(z)$: Temps de rétention de l'alcane à (z) atome de carbone qui précède (x).

$t_r(z+n)$: Temps de rétention de l'alcane (z+n) atome de carbone qui suit (x).

n : différence du nombre d'atome de carbone entre les alcanes (n=1 généralement)

VI.2. La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM)

Le couplage CPG/MS possède plusieurs atouts : le chromatogramme en phase gazeuse permet de séparer les constituants d'un mélange et le spectromètre de masse associé permet d'obtenir le spectre de masse de chacun des constituants et bien souvent de les identifier (**Hoffmann; 2005**).

Ce couplage est la technique la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, il permet, dans la grande majorité des cas, de connaître la masse moléculaire d'un composé et d'obtenir des informations structurales relatives à une molécule à partir de sa fragmentation. **(Carvalli; 2002)**

VI.2.1. Principe

Cette technique consiste à ioniser les molécules par bombardement électronique, conduisant ainsi à la formation des ions en phase gazeuse. Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse en suite détecté et transformé en un signal. Pour ce faire, il existe différents types de détecteurs capables de transformer un courant ionique faible à un signal mesurable.

Finalement l'ordinateur enregistre les données provenant du spectromètre de masse et les convertit en valeurs de masses et d'intensités des pics. **(Carvalli; 2002)**

VI.3. Chromatographie liquide haute performance (HPLC)

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la chromatographie liquide à haute performance (pression), abrégée HPLC (CLHP en français). L'HPLC est une amélioration de la chromatographie en phase liquide, dans laquelle la phase mobile est utilisée sous haute pression. L'utilisation de la haute pression améliore l'efficacité des séparations et réduit fortement les temps d'analyse. **(Skoog ; 2002).**

IV.3.1. Principe

La méthode de séparation qu'elle utilise fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. La grande différence par rapport à la chromatographie classique réside dans la durée d'éluion. Cette vitesse est obtenue par l'application d'une pression élevée grâce à une pompe qui maintient constant le débit de l'éluant, elle se distingue également de la chromatographie classique par l'utilisation d'un détecteur dont le message est enregistré puis exploité par un détecteur relié au système. **(Rouessac et Rouessac; 2009)**

VI.3.2. Appareillage

La figure ci-dessous représente schématiquement les composantes principales d'un appareil de chromatographie à haute performance.

- Un réservoir de phase mobile.
- Un dégazeur pour éliminer les bulles d'air.
- Une pompe.
- Une boucle d'injection;
- Des colonnes en acier de 10 à 25 cm remplies de phase stationnaire qui permet la séparation des constituants
- Un détecteur.
- un ordinateur qui permet l'enregistrement des données et des résultats ;
- le mode d'analyse est déterminé selon la nature des phases :

Mode normale : phase stationnaire polaire, solvant apolaire ;

Mode inverse : phase stationnaire apolaire, solvant polaire

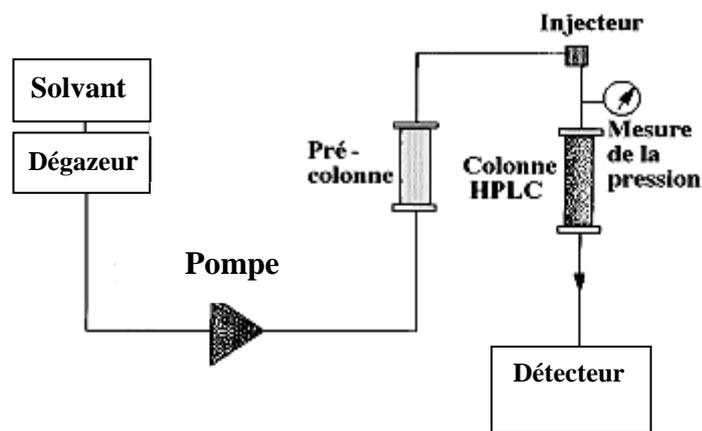


Figure 9. Schéma simplifié d'un appareil d'HPLC

Partie II

Partie expérimentale

I. MATERIEL VEGETALE

Les trois plantes (*Mentha pulegium*, *mentha spicata L* et *mentha rotundifolia*) ont été récolté dans la région d'OUAGNOUN (Tizi-Ouzou) durant le mois de Mai. La cueillette s'est effectuée le matin.

L'identification des échantillons de la *Mentha Rotundifolia*, *Mentha spicata L* et *Mentha rotundifolia* a été réalisée au Laboratoire de Biologie végétale de la Faculté des Sciences Biologiques de l'Université Mouloude Mammeri de Tizi-Ouzou.

Les plantes ont été débarrassées des débris, lavées avec de l'eau de robinet, ensuite séchées au laboratoire à l'air libre et à l'abri de la lumière.

II. DETERMINATION DE LA TENEUR EN EAU

La teneur en eau du matériel végétal par définition est la quantité d'eau, en gramme, par rapport à un gramme de la masse du matériel végétal sec. C'est la valeur optimale pour laquelle le produit ne se détériore pas et garde ses qualités nutritionnelles et organoleptiques (forme, texture, couleur, odeur et huiles essentielles). (Boulemtafes-Boukadoum et al ; 2008).

L'objectif visé dans ce travail est l'étude expérimentale de la cinétique de séchage de trois plantes médicinales sélectionnées. Le principe de la méthode consiste à suivre l'évolution de la masse de trois échantillons d'un même lot pour chaque plante, au cours du temps ($M_h(t)$), par pesées successives jusqu'à ce qu'elle devienne stable.

Afin de déterminer la masse sèche (M_s), les plantes séchées dans un endroit aéré et à l'ombre sont repesées une semaine après.

La courbe de la perte de masse ou teneur en eau à un instant t est obtenue par :

$$W(t) = (M_h(t) - M_s) / M_s \quad (1)$$

W : la teneur en eau du matériel végétal.

$M_h(t)$: la masse du matériel végétal humide en fonction de temps (g).

M_s : la masse du matériel végétal sèche (g).

Pour les trois échantillons de chaque plante nous avons déterminé la moyenne du taux d'humidité par la relation suivante :

$$\mathbf{W_{moy}} = \sum_{i=1}^n \frac{\mathbf{W_i}}{n} \quad (2)$$

W moy : teneur en eau moyenne.

n : nombre d'échantillon.

III. DETERMINATION DE LA VITESSE DE SECHAGE

Par définition la vitesse de séchage est la variation de la teneur en eau en fonction du temps.

$$\mathbf{V} = -d\mathbf{W} / dt \quad (3)$$

V : la vitesse de séchage (poids d'eau/jour).

dW : la variation de la teneur en eau.

dt : la variation de temps (jour).

IV. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES PAR HYDRODISTILLATION

Les huiles essentielles des menthes (*M.pulegium*, *M. spicata* L et *M.rotundifolia*) ont été obtenues par hydrodistillation au sein du Laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (LAOF) de la faculté de chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB).

a. Mode opératoire

L'échantillon de chaque plante est placé dans un ballon de 4 l rempli d'eau (2/3 du volume du ballon) qui est relié à un Clevenger modifié (**Hamzaoui ; 2004**) et soumis à l'ébullition, les vapeurs formées montent le long de la colonne en entraînant avec elle les huiles essentielles. Ces vapeurs sont condensés dans un réfrigérant, le condensat (eau + huile essentielle) est récupéré dans une ampoule à décanter. L'huile essentielle est obtenue par une simple décantation, et conservée à 4 °C dans des flacons en verre brun pour la préserver de

l'air et de la lumière, ces opérations permettent de pallier la dégradation de certains constituants et contribuent à l'inhibition de toutes activités responsables de sa dénaturation.

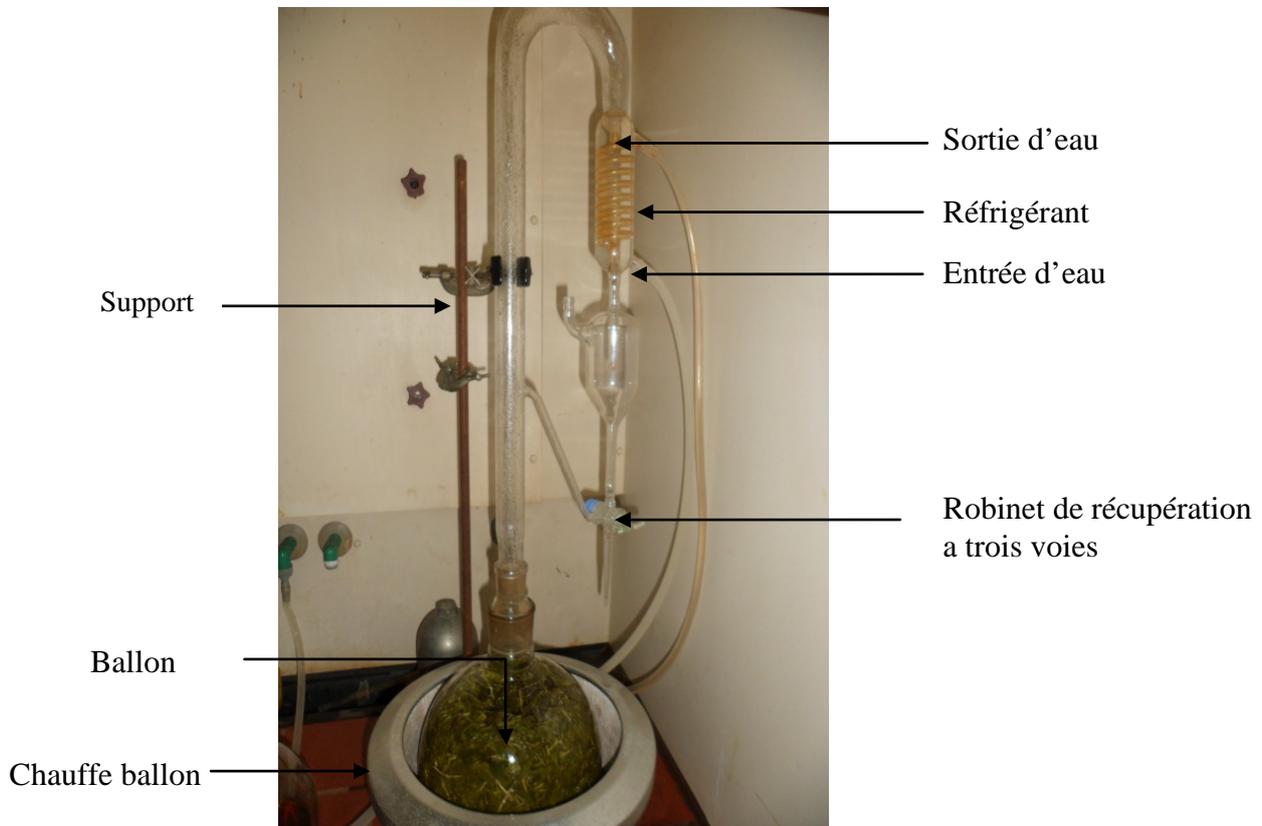


Figure 10. Montage d'extraction par hydrodistillation utilisé

b. Conditions opératoires

- Température : température ambiante.
- Pression : pression atmosphérique.
- Masse de la charge 100 ± 0.01 g.
- Temps de séchage : 12 jours pour *Mentha pulegium*.
- Temps de séchage : 13 jours pour *Mentha spicata* L.
- Temps de séchage : 10 jours pour *Mentha rotundifolia*.
- Durée d'extraction : 2 heures

c. Détermination du rendement

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse sèche de la matière végétale utilisée, il est donné selon la formule :

$$\mathbf{R_{HE}\% = (m_{HE} / m_s) * 100} \quad (4)$$

R_{HE} : rendement en huile essentielle.

M_{HE} : la masse de l'huile essentielle extraite (g).

m_s : la masse du matériel végétal sèche (g).

Tel que : $m_s = (1 - y) * m_h$

Donc
$$\mathbf{R_{HE}\% = [m_{HE} / m_h * (1 - y)] * 100} \quad (5)$$

y : taux d'humidité de la charge utilisée dans l'extraction.

m_h : la masse de matière végétale humide (g).

V. EXTRACTION DES FLAVONOÏDES DE LA *MENTHA ROTUNDIFOLIA*

L'extraction des flavonoïdes est basée sur leur degré de solubilité dans les solvants organique. Cette méthode comprend deux grandes étapes : la première phase d'extraction se fait avec l'éthanol pour solubiliser les flavonoïdes et la deuxième est réalisée avec l'acétate d'éthyle (extraction des monoglycosides).

a. Mode opératoire

Les feuilles sèches de la *Mentha rotundifolia* sont finement broyées puis sont soumis à une extraction par macération dans l'éthanol absolu pendant 72 heures avec filtration et renouvellement de solvant chaque 24 heures. Les filtrats sont évaporés à sec à 40°C à l'aide d'un rotavapeur (heizbad HB digit). Le résidu sec est repris dans 100 ml d'eau distillée bouillante afin d'assurer la récupération des composés restés accolés à la paroi du ballon d'évaporation. Et après une décantation, la phase aqueuse subit trois extractions avec l'acétate d'éthyle.

b. Calcul du rendement

Les pourcentages en extrait sec éthanolique et en acétate d'éthyle ont été calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R_{\text{extrait}} \% = (m_e / m_i) * 100} \quad \mathbf{(6)}$$

$R_{\text{extrait}} \%$: rendement en extrait exprimé en %.

m_e : masse en gramme de l'extrait sec résultant

m_i : masse initiale en gramme du matériel végétal à traiter

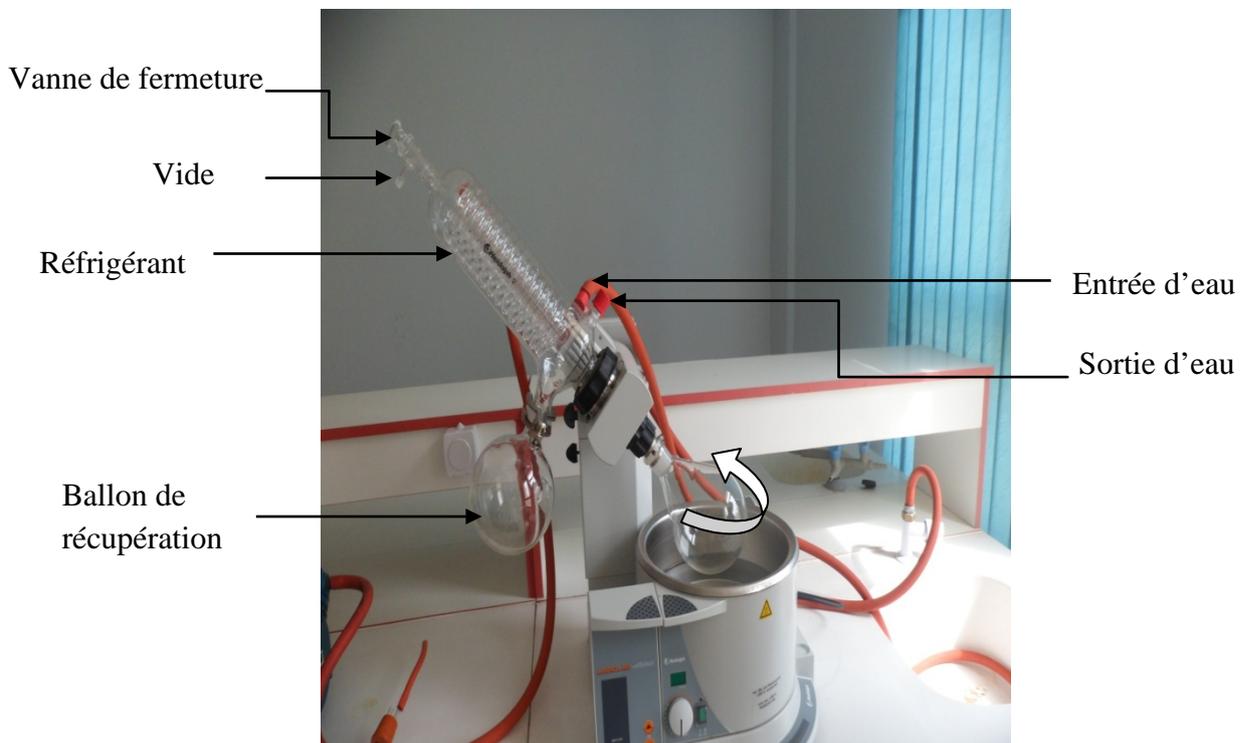


Figure 11. Montage du rotavapeur utilisé pour l'extraction des extraits.

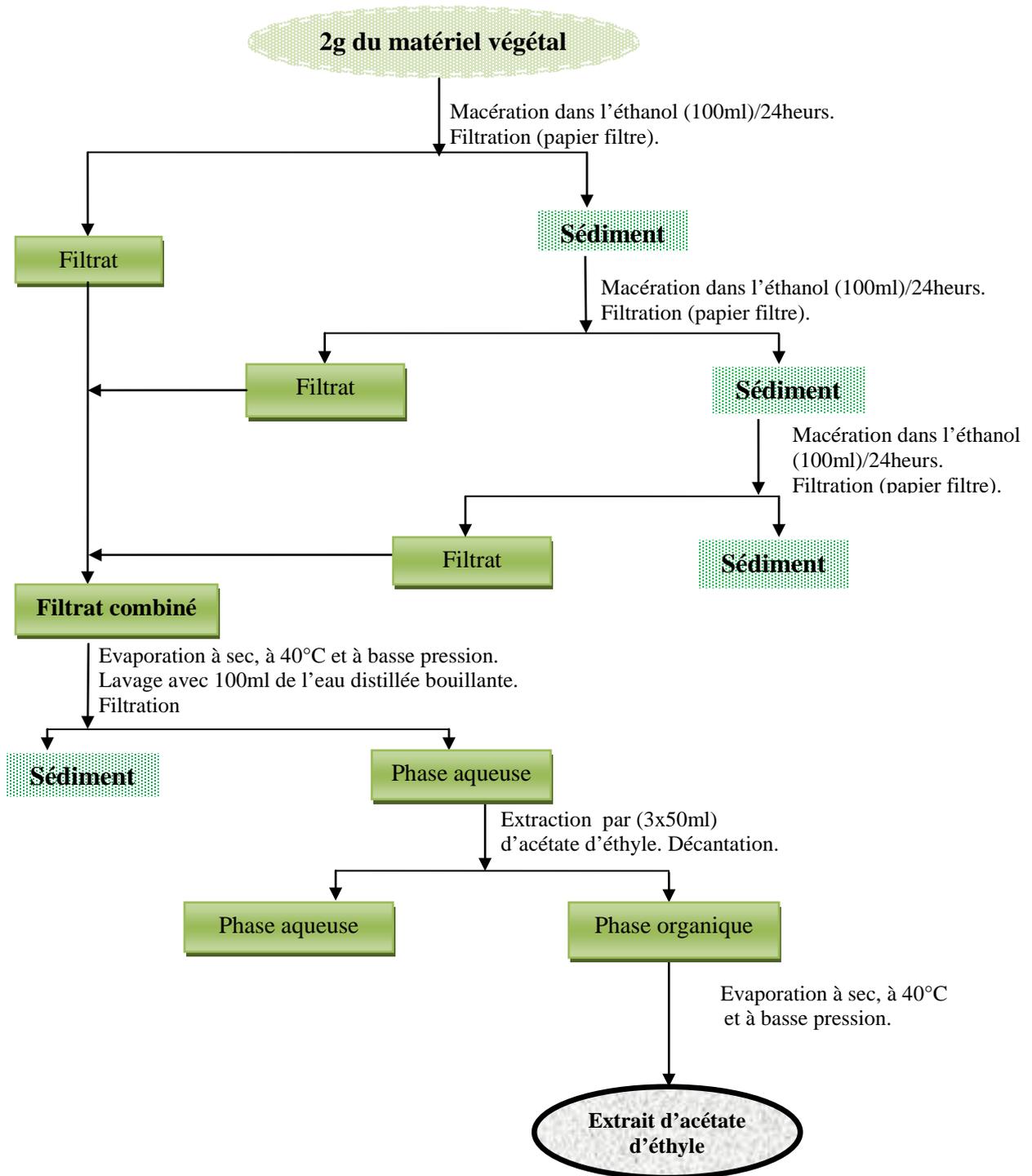


Figure 12. Protocole d'extraction des flavonoïdes des feuilles de la *Mentha rotundifolia*

VI. EVALUTION DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES ESSANCES

a. Principe

L'activité antioxydante exprime la capacité de réduction des radicaux libres. Dans notre étude, elle a été évaluée *in vitro* par la méthode de DPPH, qui consiste à utiliser un radical stable, le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl ($C_{18}H_{12}N_5O_6$), dans le méthanol. (Popovici ; 2009). La réduction du DPPH \cdot est contrôlée en mesurant l'absorbance des solutions méthanoliques mères des HE testées de 1mg/ml ainsi que sur une gamme de concentration (0.3, 0.4, 0.5 et 0.7 mg/ml), (0.4 ,0.2 ,0.1, 0.05) pour les extraits à une longueur d'onde caractéristique (515nm) (Dvaranauskaitė ; 2008).

Le pourcentage de capture du radical peut être calculé à partir de la relation ci-dessous :

$$\% \text{ CR} = [(A_B - A_A) / A_B] * 100 \quad (7)$$

% CR : le pourcentage de capture du radical DPPH.

A_B : l'absorbance du blanc (t = 0min).

A_A : l'absorbance de la solution de l'extrait testé (t = 15min).

b. Mode opératoire

La solution de DPPH a été préparée en solubilisant 2.9 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et diluée avec de MeOH jusqu'à ajuster la valeur de l'absorbance à 0.800 ± 0.003 (515 nm). La concentration exacte de la solution est calculée par interpolation de la valeur de l'absorbance dans la courbe d'étalonnage du radical DPPH ($y = 0,1121x + 0,0055$; $R^2 = 0,999$).

Le blanc a été préparé à partir de 2,4 ml de la solution méthanolique du radical DPPH et 1,2 ml de MeOH.

Une solution méthanolique (2,4 ml) du radical DPPH ($7,09 \times 10^{-5}$ M) est mélangée directement dans une cuve UV en plastique avec une solution méthanolique (1,2 ml) de l'échantillon à évaluer, agitée et maintenue à température ambiante et dans l'obscurité avant la mesure de l'absorbance par spectrophotométrie (Spectrophotometer MD-2000UV) à 515nm. Les mesures sont prises après 15 minutes.

VII. ANALYSE DES EXTRAITS

VII.1. Analyse des huiles essentielles

La composition chimique des huiles a été déterminée par Chromatographie en phase gazeuse (CG) et par Chromatographie en phase gazeuse couplée avec la Spectrométrie de Masse (CG/MS) au du laboratoire d'Analyse Organique Fonctionnelle (LAOF) de la faculté de chimie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) sous les conditions opératoires suivantes.

a. Chromatographie en phase gazeuse

L'analyse qualitative et semi-quantitative des essences a été menée sur une colonne capillaire en silice fondue apolaire HP5 MS de 25m équipée d'un détecteur à ionisation de flamme (FID). Les conditions optimales d'analyse sont données dans le tableau (7)

Tableau 7. Conditions opératoires GC

CG
Appareil : Hewlett- Packard 6890
Colonne : HP5 MS (30m x 0,32mm x 0,25 μ m, diméthylpolysiloxane)
Gaz vecteur : Azote
Débit du gaz : 0,5 mL /mn
Température de l'injecteur : 250°C
Température du détecteur : 250°C
Quantité injectée : 0,2 ul
Température de colonne : 45°C/8 min jusqu'à 250°C/15 min à raison de 2°C/min.

Le pourcentage de chaque constituant dans l'essence est calculé par intégration des aires du chromatogramme. Une série d'alcane linéaires (C₅-C₃₀) est injecté dans les mêmes conditions pour calculer les indices de rétention selon Van Den Dool des constituants des huiles essentielles.

b. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Les échantillons d'HE ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) afin de confirmer et de compléter l'identification faite par simple CPG. Cette technique est très utilisée dans l'analyse qualitative et quantitative des

échantillons complexes tels que les HE. Les conditions d'analyse sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8. Conditions opératoires GC/MS

GC/SM	
<p>- Chromatographie gazeuse</p> <p>Appareil : Hewlett- Packard 6890</p> <p>Colonne : HP5 MS (30 m x 0.32 mm x 0.25 µm)</p> <p>Gaz vecteur : Hélium</p> <p>Débit : 0.5 mL /mn</p> <p>Température de l'injecteur : 250°C</p> <p>Température du détecteur : 250°C</p> <p>Quantité injectée : 0.2 µL</p> <p>Température de colonne : 45°C/8 min jusqu'à 250°C/10 min à raison de 2°C/min.</p>	<p>- Spectrométrie de masse</p> <p>Appareil : Agilent MSD 5973</p> <p>Mode d'ionisation : impact électronique</p> <p>Tension d'ionisation : 70 eV, basse résolution</p> <p>Balayage automatique : m/z 25 à 350</p> <p>Température de la source : 280°C</p> <p>Interface : Couplage direct</p> <p>Pression : 2.10⁻⁶ Torr</p>

Afin de calculer les indices de rétention des différents constituants, un mélange d'alcane a été injecté dans les mêmes conditions.

VII.2. Analyse des flavonoïdes

L'analyse qualitative et semi-quantitative de l'extrait d'acétate d'éthyle et des étalons a été réalisée sur une colonne C18 hypersil BDS équipée d'un détecteur UV variable. Les conditions opératoires optimisées sont récapitulés dans le tableau (9).

Tableau 9. Les conditions opératoires optimisées pour l'analyse par HPLC.

HPLC
<p>Colonne : C18 hypersil BDS (250 x 4,6 mm, 5µm)</p> <p>Phase mobile Solvant A : MeOH:CH₃COOH</p> <p style="padding-left: 40px;">Solvant B : H₂O:CH₃COOH</p> <p>Détecteur : UV/Visible variable</p> <p>Longueur d'onde : 230 nm.</p> <p>Volume injecté : 20 µL</p> <p>Débit : 0,7 ml /min</p> <p>Température Ambiante : (30°C)</p>

Les deux solvants d'analyse sont une solution A d'acide acétique (AcOH) à 0,2% dans le MeOH (99,8:0,2 : v / v) d'une part et une solution B d'AcOH dans H₂O (99,8:0,2 : v / v) d'une autre part à une température de 30°C. Le gradient utilisé dans la HPLC analytique est détaillé dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10. Gradient utilisé pour l'analyse par CLHP

Gradient		
Temps (min)	Phase A(%)	Phase B(%)
0	5	95
35	70	30
40	70	30
45	5	95
55	5	95

(A) MeOH: CH₃COOH; 99.8:0.2 (v/v) et (B) H₂O:CH₃COOH; 99.8:0.2 (v/v).

VIII. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES ESSANCES

a. Choix et origine des souches tests

Le choix des bactéries et levures a été porté sur quatre souches fréquente en pathologie humaine. Nous avons sélectionné une levure (*Candida albicans*) et deux types de bactéries:

- ✓ Bactéries à Gram positive: *Staphylocoque aureus* et *Streptococcus pyogenes*.
 - ✓ Bactéries à Gram negative: *Escherichia coli*.
- ***Escherichia coli***: est un bacille Gram négatif, elle est communément trouvée dans les intestins de Mammifères, humains compris. Il en existe différentes formes dont certaines sont pathogènes, provoquant des infections intestinales, infections urinaires ou génitales.
 - ***Staphylocoque aureus***: sont des Cocci à Gram positif disposés en amas. L'espèce *S. aureus* plus communément appelé staphylocoque doré. C'est un germe très important aussi bien dans les infections communautaires que nosocomiales. Le réservoir naturel des staphylocoques est l'homme et les animaux à sang chaud. Le *S.aureus* est responsable d'infections suppuratives superficielles et profondes, responsable

d'infections suppuratives locorégionales. Ainsi que de syndromes liés à l'action de toxines.

- **Streptococcus pyogenes**: est à l'origine d'une forme minoritaire d'angines rouges, d'infections cutanées, d'abcès, d'infections broncho-pulmonaires. Ce sont des coques gram positifs, présentant un groupement typique en diplocoques (deux coques) ou en chaînettes de longueur variable, immobiles.
- **Candida albicans** : c'est un champignon de type levure, dont Cette levure vit normalement en saprophyte dans l'intestin humain ou animal en se nourrissant de matières organiques en décomposition. Elle est généralement sans danger, tant que l'équilibre bactérien qui contrôle sa multiplication n'est pas altéré. Dans certaines conditions pourtant, elle peut se multiplier de manière excessive et envahir tout l'appareil digestif (bouche, intestin, anus). Après dissémination par voie sanguine, elle peut même se propager dans tout l'organisme (bronches, peau, vagin, etc...) sous forme de muguet ou de mycoses.

Les souches bactériennes sélectionnées sont des souches hospitalières. Elles nous ont été fournies par les responsables de laboratoire d'analyse médicale.

b. Les milieux de culture

Suivant la méthode employée et selon les souches, nous avons utilisé comme milieux :

- ✓ Gélose nutritive, milieu Muller Hinton pour les bactéries.
- ✓ Milieu Sabouraud pour la levure.
- ✓ BHIB, eau physiologique.

c. Préparation de pré-culture

La réactivation des souches a été effectuée par ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu BHIB après incubation pendant 24h à 37°C. Un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de pétri contenant de la gélose nutritive (GN) puis incubées à 37°C pendant 18h. La levure a été cultivée dans le milieu Sabouraud pendant 48h.

d. Préparation de la suspension bactérienne

A partir des cultures jeunes sur gélose nutritive (GN), on prélève 3 à 5 colonies bien isolés et identiques dans 5ml d'eau physiologique, on agite pendant quelque seconde. La standardisation de la suspension à 10^6 UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620nm. On admet une densité entre 0,08 - 0,1 à une concentration de 10^7 à 10^8 germes/ml, la suspension d'inoculum est diluée à 1/10 dans l'eau distillée stérile pour avoir une concentration de 10^6 germes/ml.

e. Procédure expérimentale

Couler aseptiquement le milieu de culture Muller Hinton et Sabouraud en surfusion dans des boîtes de pétri 15ml par boîte. On laisse refroidir et solidifier sur la paillasse. 1ml de chaque suspension de culture bactérienne et levure est ensuite étalé à la surface du milieu gélosé Muller Hinton et milieu Sabouraud respectivement à l'aide d'un râteau.

f. Dépôt de disques

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé un disque de papier filtre stérile et nous l'avons imbibé avec l'échantillon à tester en mettant seulement en contact le bout du disque. L'HE est absorbé progressivement jusqu'à l'imprégnation totale du disque (5 μ l) puis déposer sur la gélose. Les boîtes de pétri sont ensuite fermées et laissées diffuser à T° ambiante pendant 30mn et mise à l'étuve à la T° de 37°C pendant 24H pour les bactéries et 48H pour la levure. Dans les boîtes de contrôle, les disques sont trempés dans l'eau distillée stérile.

Partie III

Résultats et discussions

I. CINETIQUE DE SECHAGE

Dans le but de contribuer à la valorisation du procédé de séchage et de stockage des plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à l'étude de la cinétique de séchage des feuilles de *Mentha pulegium*, *Mentha spicata L* et *Mentha rotundifolia* en calculant la variation de la teneur en eau (W) par l'équation (1). Les résultats obtenus sont représentés dans (annexe.1) et schématisés par les figures (13), (14) et (15) respectivement.

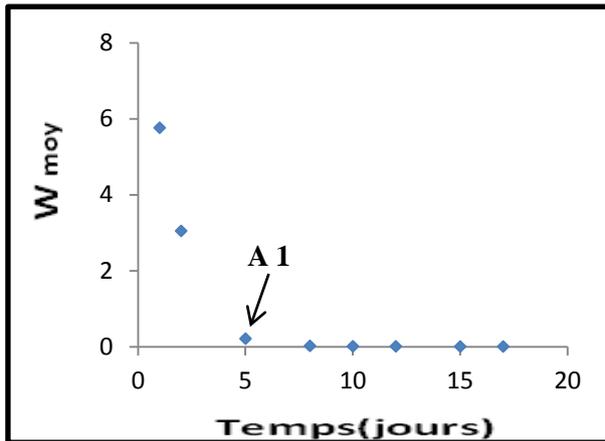


Figure 13. Evolution de la teneur en eau de la *Mentha pulegium* en fonction du temps.

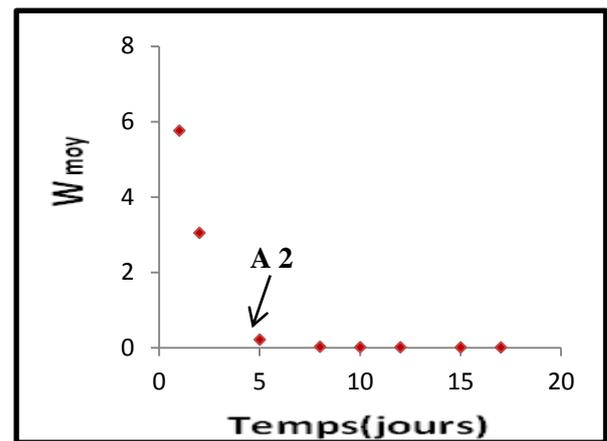


Figure 14. Evolution de la teneur en eau de la *Mentha spicata L* en fonction du temps.

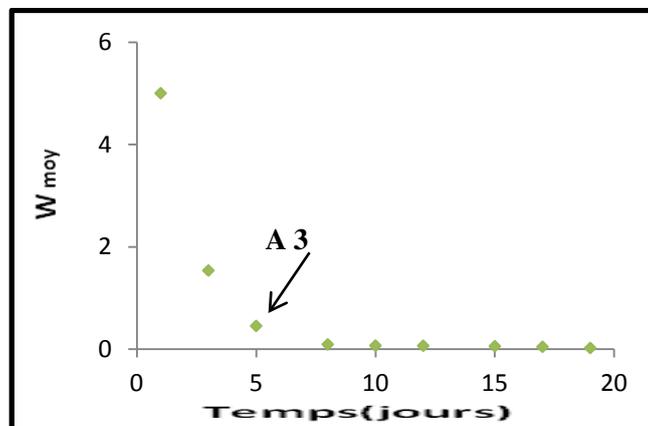


Figure 15. Evolution de la teneur en eau de la *Mentha rotundifolia* en fonction du temps

Les trois figures montrent que le taux d'humidité du matériel végétal diminue en fonction du temps, traçant une branche hyperbolique avec deux zones distinctes.

La 1^{ère} zone montre une diminution rapide de la teneur en eau du matériel végétal jusqu'au point critique « A1 » pour la menthe pouliot, « A2 » pour la menthe verte et « A3 » pour la menthe à feuilles rondes, correspondant à l'évaporation de l'eau de la couche superficielle.

La 2^{ème} zone montre une stabilité du taux d'humidité, ce qui pourrait être expliqué par un équilibre établi entre le taux d'humidité du milieu environnant et le matériel végétal, dans ce cas, on peut dire que le séchage est achevé.

Pour mieux comprendre le phénomène de séchage de chaque plante, nous avons suivi l'évolution de la vitesse de séchage au cours de temps en appliquant la relation (3) en calculant les tangentes des points expérimentaux de la courbe représentative de l'évolution de la teneur en eau ($W_{\text{moy}} = f(t)$). Les résultats sont représentés en Annexe 2.

Les courbes décrivant de l'évolution de la vitesse de séchage en fonction du temps sont représentées par les figures 16, 17 et 18.

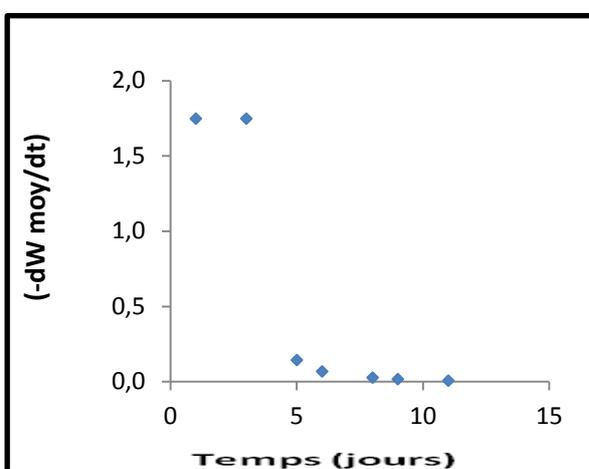


Figure 16. Evolution de la vitesse de séchage de la *Mentha pulegium* en fonction de temps

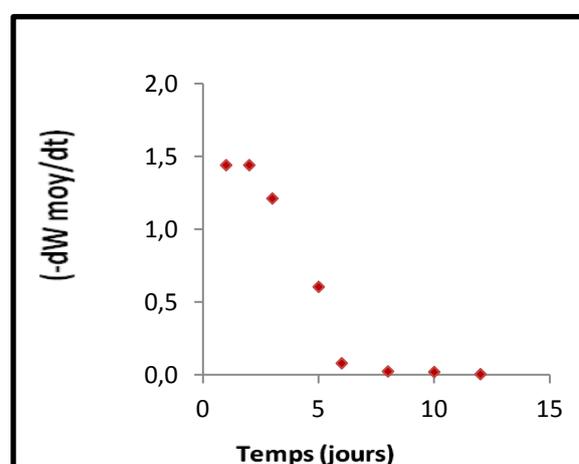


Figure 17. Evolution de la vitesse de séchage de la *Mentha spicata L* en fonction de temps

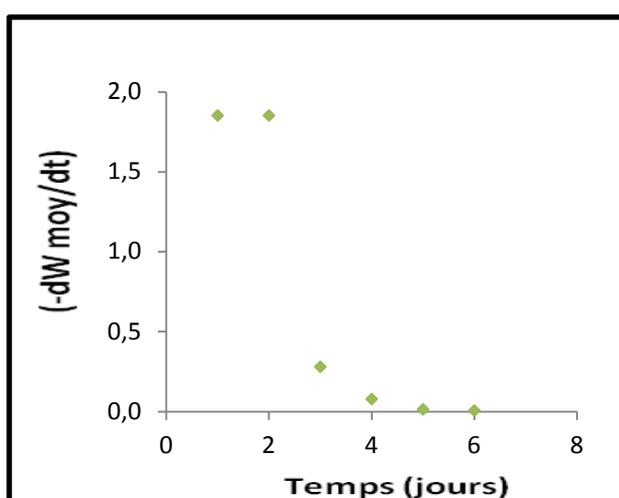


Figure 18. Evolution de la vitesse de séchage de la *Mentha rotundifolia* en fonction de temps

Les différentes courbes obtenues montrent que le séchage de trois plantes s'effectue en trois parties. Une courte période à vitesse élevée et constante qui peut s'expliquer par le fait qu'au début du séchage la perte de l'eau de la surface s'effectue aisément grâce à la richesse de cette partie en eau. La deuxième période à vitesse décroissante représente la diffusion de l'eau de la partie intérieure des feuilles vers la surface qui nécessite beaucoup de temps et la dernière montre la disparition complète de l'eau superficielle et en cours de cette période la vitesse de séchage tend vers zéro.

Calcul des vitesses de séchage :

Elles sont données par les relations suivantes :

$$V_1 = - (W_c - W_i) / (t_c - t_i)$$

$$V_2 = - (W_e - W_c) / (t_e - t_c)$$

V1 : Vitesse de la première période.

V2 : Vitesse de la deuxième période.

Wi : la teneur en eau à l'état initial

ti : temps initial

Wc : la teneur en eau à l'état critique

tc : temps critique

We : la teneur en eau à l'équilibre

te : temps d'équilibre

Le tableau 11 regroupe les valeurs des vitesses de la première et la deuxième période de séchage des feuilles de *Mentha pulegium*, *Mentha spicata L* et *Mentha rotundifolia*.

Tableau 11. Vitesses de séchage des feuilles de *M. pulegium*, *M.spicata L* et *M.rotundifolia*.

Vitesses	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha spicata L</i>	<i>Mentha rotundifolia</i>
V₁	2,657	1,387	1,138
V₂	0,063	0,020	0,030

V: (poids d'eau/jour)

II. CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES

Les propriétés organoleptiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. A l'issue des distillations, les paramètres organoleptiques de nos HEs sont indiqués dans le tableau ci- dessous.

Tableau 12. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites

	<i>M.pulegium</i>	<i>M.spicata L</i>	<i>M.rotundifolia</i>
Aspect	Liquide limpide et mobile	Liquide mobile	Liquide mobile
Couleur	Jaune pâle	Jaune claire	Incolore
Odeur	Fraiche et forte	Fraiche avec odeur de la feuille	Très forte et persistante odeur

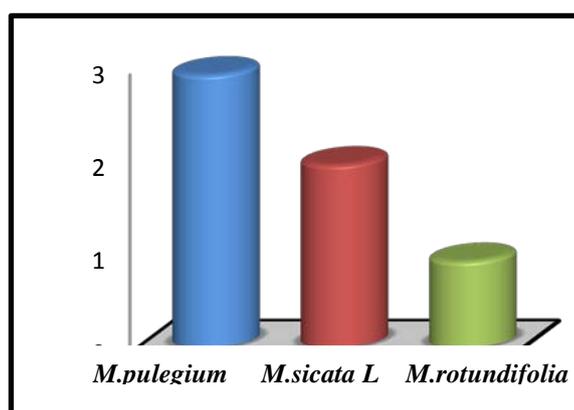
III. DETERMINATION DU RENDEMENT

III.1. Des huiles essentielles

Les rendements en huile essentielle de *Mentha pulegium*, *Mentha spicata L* et *Mentha rotundifolia* sont déterminés d'après la relation (5), et les taux d'humidité pour chaque matière végétale est déterminé à partir des graphes (Annexe.2). Le tableau 13 résume les rendements en huiles essentielles extraites.

Tableau 13. Rendement en huiles essentielles des différentes Menthes

HE	<i>M.pulegium</i>	<i>M.spicata L</i>	<i>M.rotundifolia</i>
Masse (g)	2,381 ± 0,001	1,948 ± 0,001	0,868 ± 0,001
Rendement (%)	2,931 ± 0,020	1,966 ± 0,015	0,925 ± 0,005

**Figure 19.** Pourcentages en huiles essentielles

D'après ces résultats, les rendements des huiles essentielles sont significativement différents entre les trois plantes, la *M. pulegium* a représenté le rendement le plus élevé (2,93 %), suivi par la *M. spicata* L (1,97 %), et en dernier la *M. rotundifolia* (0,93 %).

D'après les résultats cités dans la littérature scientifique, il est bien évident que les menthes renferment peu d'HE. Les résultats obtenus dans ce travail sont presque similaires aux autres résultats cités. En effet d'après (Derwich et al ; 2010) la menthe pouliot a un rendement de 1,66 %, la *Mentha rotundifolia* renferme 1,54 %; alors que pour la *Rotundifolia* du Maroc son rendement est de 4,33 %. D'après (Boukenna et Bouzidi ; 2007) la Menthe verte a un rendement de 1,04%. Cette différence pourrait être expliquée par le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'HE. Le climat, la zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée, etc. Ce sont des facteurs entre autre qui peuvent avoir un impact direct sur le rendement en HE.

III.2. Des extraits

L'extraction des flavonoïdes par la méthode d'affrontement par les solvants organiques à partir de la poudre de feuilles de la *Mentha rotundifolia*, montre que l'extrait éthanolique représente le rendement le plus élevé 18 % suivi de l'extrait d'acétate d'éthyle 7,5 % (tableau 14).

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après élimination du solvant par évaporation rotatif) et le poids du ballon vide.

D'une manière générale, les teneurs en extraits secs varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille mais également en fonction du solvant d'extraction.

Tableau 14. Rendement des extraits de la *Mentha rotundifolia*

Extrait	Ethanol	Acétate d'éthyle
Masse (g)	0,36 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Rendement (%)	18,00 ± 0,56	7,50 ± 0,52

IV. ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIOXYDANTE DES ESSENCES

Au départ, le DPPH est sous sa forme 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl radicalaire. A 515 nm ce radical absorbe mais après sa réduction par l'antioxydant, l'absorption diminue et il

présent en solution une coloration violette, cette couleur disparaît lorsque le DPPH est piégé par des substances antioxydantes, la forme réduite confère à la solution une coloration jaune pâle, cette coloration dépend de la puissance de la substance antiradicalaire.

IV.1. Huiles essentielles

a. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH

Les pourcentages de capture du radical DPPH (CR%) ont été calculés par la relation 7. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 15 pour une concentration en HE de 1mg/ml.

Les valeurs des absorbance et des activités antioxydantes obtenues pour chaque huile essentielle sont regroupées en Annexe 3.

Tableau 15. Activité antioxydante (%) évaluée par le radical DPPH des huiles essentielles

Echantillon	Activité de piégeage du DPPH (% CR)
<i>M.pulegium</i>	33,15
<i>M .spicata L</i>	27,74
<i>M.rotundifolia</i>	35,42
BHT	75.10

Au vu de ces résultats, les huiles essentielles des feuilles des trois menthes ont manifesté une faible activité antioxydante pour une concentration de 1mg/ml comparé à celle du BHT. Généralement, le pouvoir antioxydant est tributaire de la mobilité de l'atome d'hydrogène des composés phénoliques de l'huile essentielle. En présence d'un radical libre DPPH', l'atome H est transféré sur ce dernier et il va se transformer en une molécule stable DPPH-H, ceci provoque une diminution de la concentration du radical libre.

b. Détermination de la CE50

La concentration efficace (CE₅₀) est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur de CE₅₀ est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande (Sharififar ; 2007).

Tableau 16. Activité antioxydante (méthode DPPH) des extraits exprimés en pourcentage de capture du radical (%CR)

HE	Equations	R ²	CE ₅₀ ± DS (mg/ml)	% CR ₅₀ ± DS (%)
<i>M.pulegium</i>	$y = 0,0287x + 5,3301$	0,991	1,556 ± 0,003	6,765 ± 0,147
<i>M.spicata L</i>	$y = 0,0333x - 5,0201$	0,996	1,652 ± 0,001	-
<i>M.rotundifolia</i>	$y = 0,0316x + 5,5327$	0,993	1,407 ± 0,002	7,113 ± 0,012

% CR₅₀ : pourcentage de capture du radical du radical DPPH à une concentration de 50 µg/ml.

CE₅₀ : Concentration Efficace de l'extrait pour réduire le DPPH de 50%.

Y : %CR. x : Concentration de l'extrait.

Comme figurant sur le tableau ci-dessus, les trois huiles sont dotées d'un pouvoir antioxydant mais reste d'une efficacité très distante comparer à ceux enregistré dans d'autres espèces de même genre, qui ont manifesté une activité puissante de l'ordre de quelques microgrammes : *Mentha piperita* et *Mentha longifolia*. (Souri ; 2008).

La concentration inhibitrice minimale (IC₅₀) est estimée par extrapolation à % CR = 50% en traçant la courbe % CR en fonction de la concentration (Figures 20, 21 et 22).

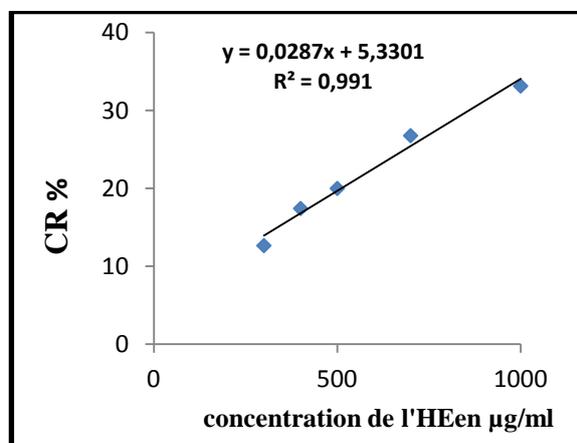


Figure 20. Pourcentage de capture du radical DPPH de la *M. pulegium*

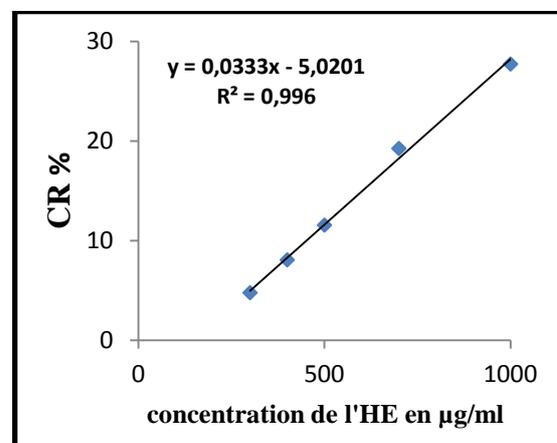


Figure 21. Pourcentage de capture du radical DPPH de la *M. spicata L*

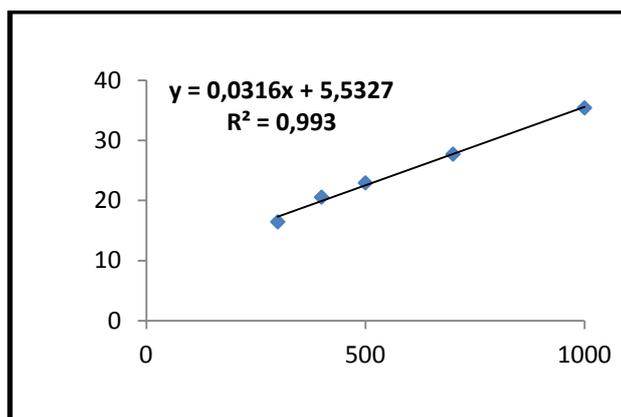


Figure 22. Pourcentage de capture du radical DPPH de la *M. rotundifolia*

IV.2. Extraits de la *M. Rotundifolia*

a. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH

Les pourcentages de capture du radical DPPH (CR%) ont été calculés par la relation 7. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 17 pour une série de concentration. Les valeurs des absorbance et les pourcentages de capture de radical libre DPPH des extraits de la *M. rotundifolia* obtenus sont regroupés dans Annexe 4.

b. Détermination de la CE50

Pour mieux caractériser le pouvoir antioxydant, nous avons calculé la concentration inhibitrice minimale IC_{50} appelé aussi concentration efficace CE_{50} de l'extrait pour réduire le DPPH de 50%, et les résultats des deux extraits ont été estimés en utilisant la courbe de régression linéaire : $y = ax + b$ (figure 23)

Où $y = 50\%$ (pourcentage de réduction de DPPH)

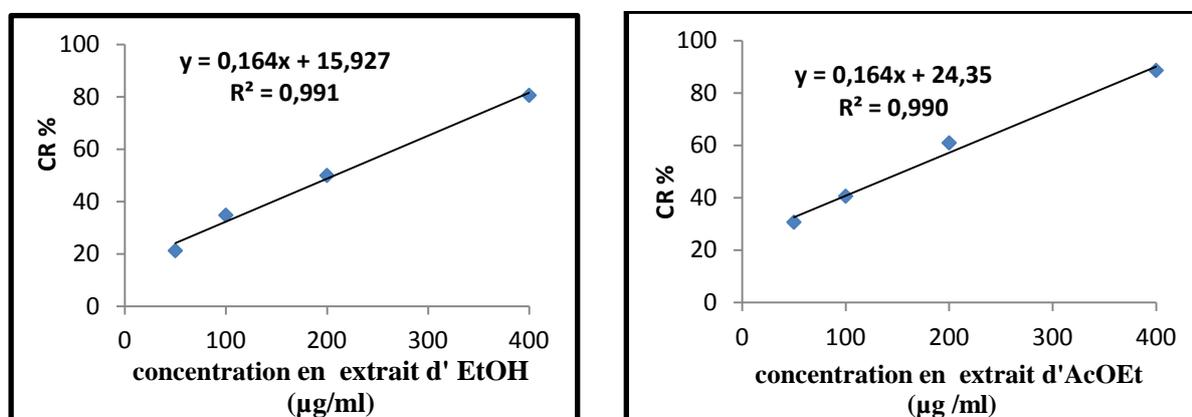


Figure 23. Pourcentage de capture de radical libre DPPH en fonction des concentrations de l'extrait éthanolique et acétatique de la *Mentha rotundifolia*

Ces résultats montrent (tableau 17) que nos extraits possèdent une puissante activité à céder le proton pour neutraliser le radical DPPH.

L'extrait d'acétate d'éthyle paraît le plus actif par rapport à l'extrait d'éthanol et son activité est plus importante sur la réduction du DPPH.

Parmi les deux extraits de la *Mentha rotundifolia*, l'acétate d'éthyle représente l'extrait le plus actif, sa CE_{50} est de 0,156 mg/ml.

Tableau 17. Activité antioxydante (méthode DPPH) des extraits exprimés en pourcentage de capture du radical (%CR)

Extraits	Equations	R ²	CE ₅₀ ± DS (mg/ml)	%CR ₅₀ ± DS (%)
Ethanol	y= 0,164x + 15,927	0,991	0,208 ± 0,001	24,127 ± 0,649
Acétate d'éthyle	y= 0,164x + 24,350	0,990	0,156 ± 0,002	32,550 ± 0,515

% CR₅₀ : pourcentage de capture du radical du radical DPPH à une concentration de 50 µg/ml.

CE₅₀ : Concentration Efficace de l'extrait pour réduire le DPPH de 50%.

Y : %CR. x : Concentration de l'extrait.

V. ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES PAR GC ET GC/MS

De nombreuses études se développent actuellement pour isoler et identifier des composés de plantes qui ont une activité antibactérienne, antioxydante, antifongique et insecticide.

L'analyse qualitative et semi-quantitative des essences extraites par hydrodistillation a été effectuée par GC sur une phase stationnaire apolaire HP5MS (Polyméthyle siloxane, 30m x 0,25mm x 0,25µm). L'identification a été réalisée grâce au couplage GC/MS, sur une même colonne par comparaison avec les spectres de masse de référence et à ceux de la banque de spectres (Nist et Wiley 07). L'injection des n-alcanes, sous les mêmes conditions opératoires nous a permis de calculer les indices de rétention de tous les pics (voir les détails dans le chapitre II).

L'analyse des essences par GC et par GC/MS, a montré des différences importantes dans leur composition du point de vue qualitatif et semi-quantitatif. Les chromatogrammes des huiles essentielles obtenus sont représentés sur les figures (24-26)

Tableau 18. Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*

N°	Composé	%	TR	IR
1	α -thujène	0,05	15,230	929
2	α -pinène	0,30	15,684	936
3	camphène	tr	16,702	951
4	sabinène	0,05	18,738	978
5	β -pinène	0,20	18,856	979
6	1-octene-3-ol	tr	19,550	988
7	Octan-3-one	0,58	20,051	994
8	β -myrcène	tr	20,290	997
9	Octan-3-ol	1,06	20,933	1005
10	α -terpinène	tr	22,060	1021
11	o-cymène	tr	22,740	1030
12	limonène	3,28	23,176	1036
13	cis- β -ocimene	tr	24,720	1055
14	γ -terpinène	tr	25,350	1063
15	cis-sabinène hydrate	0,01	26,210	1073
16	α -terpinolène	tr	27,500	1087
17	1-octen-3-yl acétate	tr	30,610	1127
18	camphre	tr	31,690	1142
19	menthone	6,80	32,839	1158
20	iso-pulegol	tr	32,900	1158
21	iso-menthone	4,36	33,539	1167
22	néo-menthol	4,95	34,075	1173
23	menthol	4,94	34,428	1178
24	iso-menthol	2,64	34,716	1181
25	néo-iso-menthol	0,20	36,076	1198
26	pulegone	39,47	40,378	1260
27	piperitone	0,18	40,548	1262
28	néo-menthyl acétate	0,49	41,631	1276
29	thymol	0,10	42,796	1292
30	eugenol	tr	46,760	1354
31	α -copaène	tr	47,860	1371

N°	Composé	%	TR	IR
32	β -bourbonène	0,05	48,434	1380
33	β -cubébène	tr	48,790	1386
34	β -élemène	0,09	48,952	1388
35	trans-caryophyllène	1,78	50,706	1417
36	α -humulène	3,18	52,896	1453
37	D-germacrène	1,80	54,543	1480
38	δ -cadinène	0,07	56,991	1521
39	oxyde de caryophyllène	tr	60,386	1581
40	α -epi-cadinol	tr	63,735	1639
41	α -cadinol	0,08	64,471	1652
% d'identification			79,18	
Monoterpène hydrocarboné			3,88	
Sesquiterpène hydrocarboné			10,85	
Cétones			51,39	
Alcools			13,87	
Ether oxydes			tr	
Esters			0,5	
Divers			-	

tr : trace <0.01 ; TR : temps de rétention

IR: indices de rétention déterminée sur une colonne capillaire HP5-MS (apolaire) en programmation de température selon Van Den Dool et Kratz

Tableau 19. Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha spicata L*

N°	Composé	%	TR	IR
1	2-hexanal	0,10	10,248	856
2	2,5-diethyl-tetra-hydrofuran	tr	13,140	896
3	Tricyclène	0,06	14,550	918
4	α -thujène	0,10	15,268	929
5	α -pinène	0,88	15,721	936
6	Camphène	0,35	16,733	951
7	Sabinène	0,85	18,822	979
8	β -pinène	0,77	18,934	980
9	1-octène-3-ol	tr	19,620	989
10	β -myrcène	5,38	20,546	1000
11	octan-3-ol	0,20	20,858	1004
12	α -terpinène	0,58	22,130	1022
13	o-cymène	tr	22,770	1031
14	Limonène	12,96	23460	1039
15	cis- β -ocimène	0,47	24,054	1047
16	trans- β -ocimène	0,13	24,760	1056
17	γ -terpinène	1,07	25,490	1064
18	cis-sabinène hydrate	2,80	26,302	1074
19	α -terpinolène	0,28	27,644	1089
20	trans-sabinène hydrate	0,19	28,397	1097
21	Linalool	0,19	28,733	1100
22	1-octen-3-yl acetate	tr	29,720	1115
23	terpinène-1-ol	0,12	30,116	1120
24	trans-limonène oxide	0,03	31,334	1137
25	Camphre	tr	31,690	1142
26	Menthone	0,08	32,470	1153
27	Menthone	tr	33,200	1162
28	Bornéol	1,24	33,499	1166
29	terpinène-4-ol	2,54	34,476	1178
30	cis-dihydrocarvone	0,55	35,736	1194
31	p-menth-8-en-2-ol	0,21	37,007	1211
32	Carvone	18,00	40,850	1266

N°	Composé	%	TR	IR
33	bornyl acétate	0,28	42,268	1285
34	dihydrocarvyl acétate	1,05	45,070	1327
35	trans carvyl acétate	0,05	45,570	1335
36	β -bourbonene	0,34	48,483	1381
37	β -elemene	0,07	48,977	1388
38	cis-jasmone	0,07	49,424	1395
39	trans-caryophyllène	1,18	50,696	1416
40	α -humulène	0,18	52,720	1450
41	trans- β -farnesène	tr	43,100	1296
42	bicyclo sesquiphellandrène	0,22	53,332	1460
43	allo-aromadendrene	Tr	53,500	1463
44	D-germacrène	0,89	54,492	1479
45	trans- β -ionone	tr	54,790	1484
46	Bicyclogermacrène	0,10	55,357	1493
47	γ -cadinène	0,13	56,434	1511
48	cis-calaménène	0,14	56,916	1520
49	α -cadinène	tr	57,780	1536
50	oxyde de caryophyllène	tr	60,360	1581
51	α -epi-cadinol	0,57	63,772	1640
52	α -cadinol	0,10	64,478	1652
% d'identification			58,85	
Monoterpène hydrocarboné			23,88	
Sesquiterpène hydrocarboné			3,25	
Cétones			21,95	
Alcools			5,17	
Ether oxydes			0,03	
Esters			4,47	
Divers			0,1	

tr : trace <0.01 ; TR : temps de rétention

IR: indices de rétention déterminée sur une colonne capillaire HP5-MS (apolaire) en programmation de température selon Van Den Dool et Kratz

Tableau 20. Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha Rotundifolia*

N°	Composé	%	TR	IR
1	α -thujène	tr	15,230	929
2	α -pinène	0,15	15654	935
3	Camphène	0,07	16,690	950
4	Sabinène	0,09	18,726	978
5	β -pinène	0,20	18,849	979
6	1-octen-2-ol	0,43	19,585	988
7	β -myrcène	0,76	20,332	997
8	octan-3-ol	0,11	20,739	1003
9	α -terpinène	0,07	22,045	1021
10	o-cymen	0,01	22,680	1029
11	Limonène	0,36	23,004	1034
12	1,8-cineol	0,18	23,140	1035
13	trans- β -ocimene	1,26	24,034	1047
14	cis- β -ocimene	0,06	24,705	1055
15	γ -terpinène	0,18	25,370	1063
16	cis-sabinène hydrate	0,98	26,117	1072
17	α -terpinolène	0,06	25,577	1065
18	trans-sabinène hydrate	0,06	28,342	1096
19	Linalool	0,04	22,680	1100
20	1-octen-3-yl-acétate	0,27	29,737	1115
21	terpinène-1-ol	0,04	30,108	1120
22	Camphre	0,09	30,596	1127
23	allo-ocimene	0,01	30800	1130
24	terpinène-1-ol	0,01	31460	1139
25	Bornéol	0,80	33,438	1165
26	Terpinène-4-ol	1,00	34,351	1177
27	cis-dihydrocarvone	0,24	35,681	1193
28	Carvone	6,46	39830	1252
29	cis-piperitone oxide	49,00	41,360	1273
30	bornyl acetate	0,16	42,266	1285
31	Thymol	2,84	43,267	1298

N°	Composé	%	TR	IR
32	Carvacrol	tr	43,879	1307
33	dihydrocarvyl acetate	0,26	44,991	1326
34	piperitenone oxide	10,04	47,963	1373
35	β -bourbonene	tr	48,500	1381
36	β -elemene	0,15	49,034	1389
37	α -copaène	tr	49,200	1392
38	cis-jasmone	0,73	49,569	1397
39	α -gurjunène	tr	50,010	1405
40	trans-caryophyllène	2,53	50,811	1418
41	α -humulène	0,22	52,800	1452
42	trans- β -farnesène	0,15	53,189	1458
43	allo-aromadendrene	1,23	53,454	1462
44	D-germacrène	3,95	54,666	1482
45	trans- β -ionone	tr	54,770	1484
46	Obicyclogermacrène	0,10	55,390	1493
47	β -bisabolène	tr	56,200	1507
48	γ -cadinène	0,14	56,461	1512
49	cis-calaménène	0,43	56,973	1521
50	δ -cadinène	tr	57,420	1529
51	α -cadinène	0,13	57,838	1537
52	cis-muurool-5-en-4- α -ol	tr	58,360	1546
53	4-ol-germacrene D	0,09	60,004	1574
54	oxyde de caryophyllène	0,14	60,386	1581
55	Viridiflorol	0,17	60,922	1590
56	1,10-di-epi-cubenol	0,72	62,344	1615
57	α -epi-cadinol	0,32	63,735	1639
58	α -cadinol	0,49	64,535	1653
% d'identification		51,39		
Monoterpène hydrocarboné		9,09		
Sesquiterpène hydrocarboné		12,31		

Cétones	tr
Alcools	6,15
Ethers Oxydes	59 ,36
Esters	tr

tr : trace <0.01 ; TR : temps de rétention

IR: indices de rétention déterminée sur une colonne capillaire HP5-MS (apolaire) en programmation de température selon Van Den Dool et Kratz

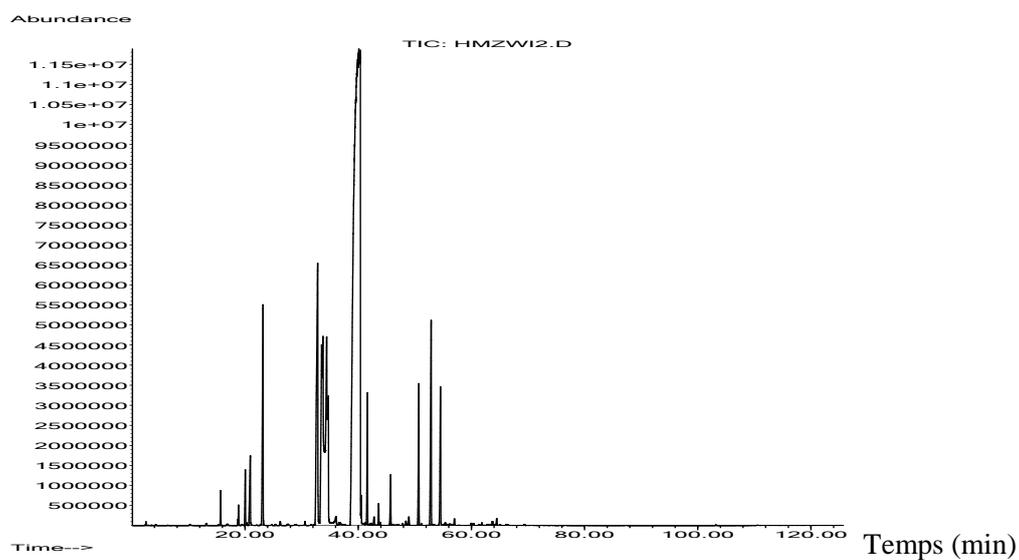


Figure 24. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* par GC/MS

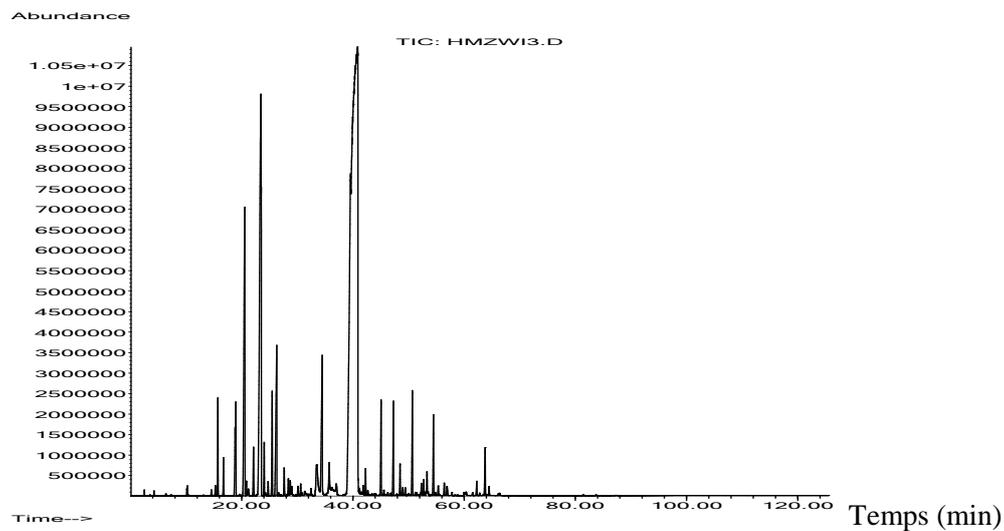


Figure 25. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Mentha spicata L* par GC/MS

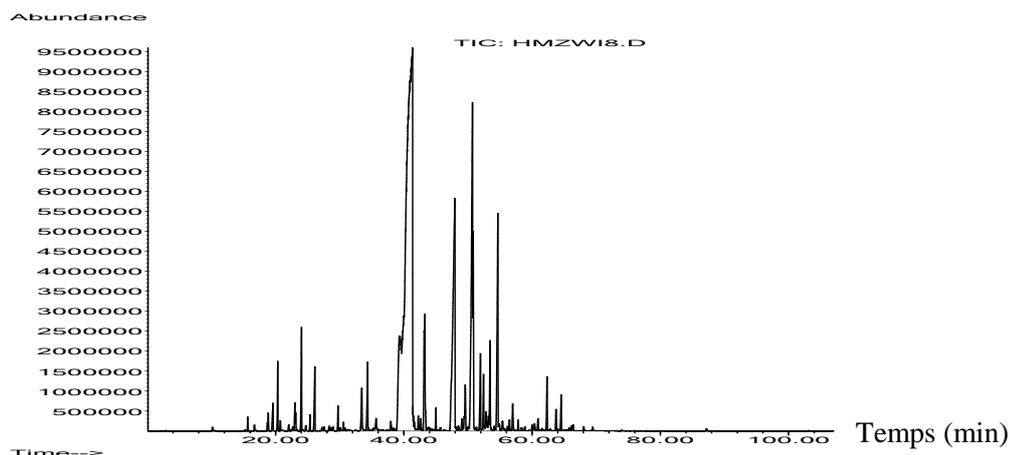


Figure 26. Chromatogramme de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* par GC/MS

Nous remarquons que les nombres de pics obtenus sur les chromatogrammes sont inférieurs aux nombres de spectres indexés car un pic peut représenter deux à trois constituants mal séparés. Le détecteur utilisé en GC/MS, de par sa grande sensibilité peut permettre une détection des constituants à l'état de traces. Pour certains nombres de spectres, nous n'avons pas pu déterminer avec précision le composé correspondant par manque de spectre de référence.

La combinaison de la GC et de la GC/SM nous a permis d'identifier 41 composés pour la *Mentha pulegium* représentant 79,18%, de la composition total, 52 composés pour la *Mentha spicata* L représentant 58,85% et 58 composés pour la *Mentha rotundifolia* représentant 51,39% de la composition total, D'une manière générale, les huiles essentielles de la *Mentha pulegium* et la *Mentha rotundifolia* contiennent des hydrocarbures mono et sesquiterpéniques en quantité moindre, alors que les dérivés oxygénés comptent parmi leurs constituants majoritaires, contrairement à l'HE de la *Mentha spicata* dont les composés majoritaire sont des oxygéné et hydrocarbures monoterpénique.

L'étude montre une prédominance en pulégone (39,47%), menthone (6,80%) et neo-menthol (4,95%) pour *Mentha pulegium*. L'étude de la composition chimique de l'huile de cette même plante, mais d'autres provenances, a fait l'objet de plusieurs travaux de recherche (Elhoussine et al 2010, Derwich et al2010) et les résultats obtenus pour les différents travaux montrent que cette huile est formée principalement de pulégone.

Mentha spicata L est majoritairement composée de carvone (18,00%), limonène (12,96%) et β -myrcène (5,38%). Ces résultats sont identiques à ceux cités dans la littérature.

Mentha rotundifolia est constitué majoritairement de cis-piperitone oxide (49,00%), piperitenone oxide (10,04%) et le carvone (6,46%). L'oxyde de pipéritone a été rapporté comme constituant majoritaire de l'huile essentielle de *M.rotundifolia* de Grèce et d'Allemagne (Brada et al .2007).

La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huile de la *Mentha Pulegium* (tableau 18) révèle qu'elle est riche en cétones 51,39% suivi par les alcools 13,87% puis par les sesquiterpènes 10,85% et enfin par les monoterpènes 3,88% alors que les esters et les éthers sont à l'état de trace (figure 27).

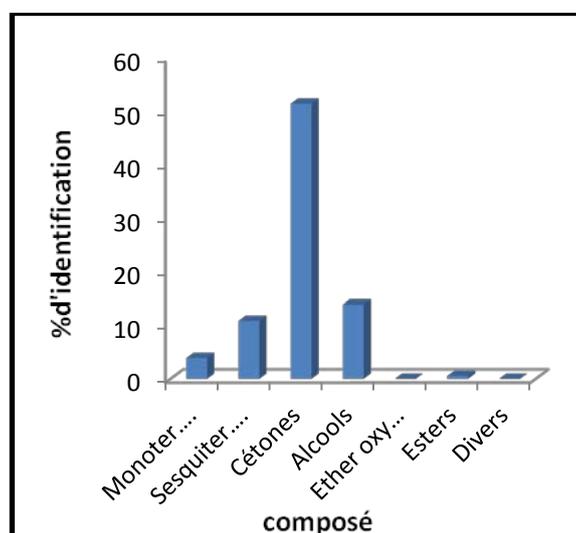


Figure 27. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huiles de la *Mentha Pulegium*

L'huile essentielle de la *Mentha Spicata* (tableau 19) présente un taux en pourcentage plus quasiment identique en monoterpène et en cétone suivie par les alcools 5,17% et les esters 4,47% et enfin les sesquitérpènes 3,25%. Les éthers oxyde sont par contre à l'état de trace (figure 28)

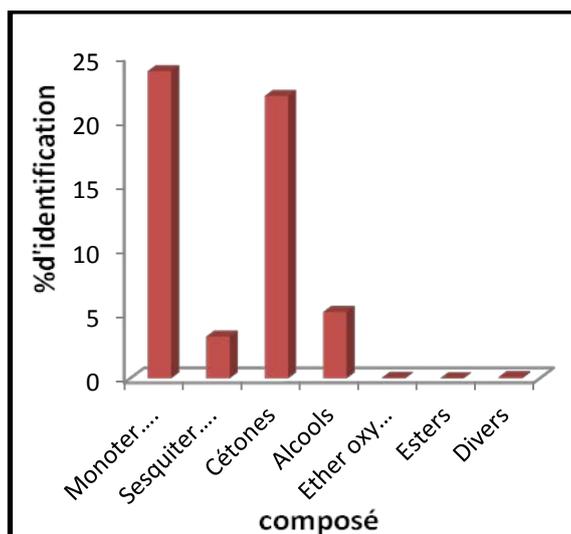


Figure 28. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huiles de la *Mentha Spicata*

La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huile de la *Mentha Rotundifolia* (tableau 20) révèle qu'elle est riche en éthers oxyde 59,36 % suivi par les sesquiterpènes 12,31 % puis les monoterpènes 9,09 % et enfin par les alcools 6,25 % alors que les esters et les cétones n'excède pas les 2 % (figure 29).

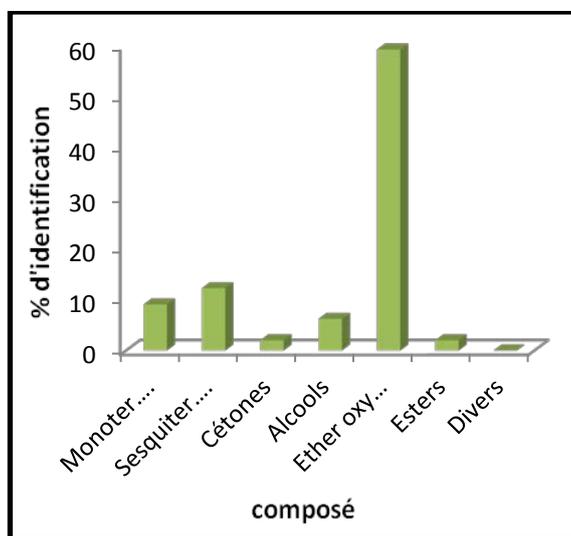


Figure 29. La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'huiles de la *Mentha Rotundifolia*

VI. ANALYSE DE L'EXTRAIT DE LA MENTHA ROTUNDIFOLIA PAR HPLC

Le résidu sec est solubilisé dans le méthanol et analysé par HPLC afin d'identifier une partie des flavonoïdes présents dans ce mélange. L'identification a été réalisée grâce à un étalonnage externe.

Chaque échantillon est injecté en HPLC suivant un gradient d'éluion (tableau.10). Afin d'identifier le maximum de composés, nous avons injecté douze étalons flavonoïdes et huit acides phénols dont quatre isolé à partir de l'*Artemisia herba-alba* de M'sila (**Hamzaoui N; 2011**) à savoir l'acide chlorogénique et ces dérivés dans les mêmes conditions que nos échantillons.

Tableau 21.Liste des étalons flavonoïdes utilisés

Flavonoïde	Classe
Isorhamnetine	Flavonol
Quercétine	Flavonol
Fisetine	Flavonol
Rutine	Flavonol
Hespéretine	Flavonol
Luteoline	Flavone
Rhamnetine	Flavonol
Quercitrine	Flavone
Myricétine	Flavonol
Hesperidine	Flavonone
Hyperoside	Flavone
Genestine	Isoflavone
Acide Gallique	Acide phénol
Acide Vanillique	Acide phénol
Acide caféique	Acide phénol
Acide Coumarique	Acide phénol
Acide Chlorogénique	Acide phénol
Acide 3,5-di-O-cafféoylquinique	Acide phénol
Acide 4,5-di-O-cafféoylquinique	Acide phénol
Acide 3,4,5-tri-O- cafféoylquinique	Acide phénol

Sur les vingt étalons injectés, nous avons pu avoir six étalons qui absorbent dans la longueur d'onde choisie et qui ont également un bon profil avec les conditions d'analyse. Nous n'avons pu identifier que deux flavonol (la quercétine et la myricétine), une flavone (la luteoline) et un acide phénol (acide vanillique) la figure 30 représente le chromatogramme de notre échantillon

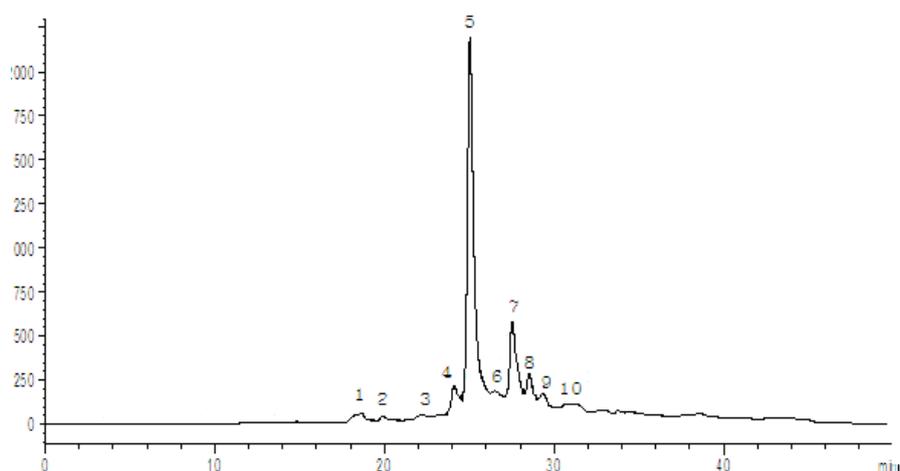


Figure 30. Chromatogrammes de l'extrait d'acétate d'éthyle de la *mentha Rotundifolia*

Les quatre polyphénols identifiés par rapport l'extrait d'acétate d'éthyle sont décrits dans le tableau 22

Tableau 22. Les polyphénols identifiés.

N° du pic	Polyphénol	Temps de rétention (min)
1	Acide vanillique	18,233
5	Lutéoline	25,033
6	Myrecitine	26,534
10	Quercetine	30,958

Parmi les flavonoïdes identifiés on retrouve la quercetine dont le rôle physiologique a été démontré (Nöthling et al ; 2007). En effet leurs recherches ont montré qu'une alimentation riche en antioxydants phénoliques dont la quercetine, pouvait être corrélée avec une baisse significative des décès par athérosclérose en diminuant l'oxydation des LDL (low density lipoprotein).

On retrouve aussi la lutéoline, à qui on prête à un rôle important dans le corps humain, comme antioxydant, destructeur de radicaux libres, agent préventif d'inflammation, composé aidant aussi au métabolisme des glucides, et comme régulateur du système immunitaire. De nombreuses recherches expérimentales décrivent la lutéoline comme un agent chimique qui réduit considérablement les inflammations et les symptômes du choc septique.

La myricétine possède des propriétés antioxydantes. Des recherches in vitro tendraient à prouver que la myricétine en grande concentration peut modifier le taux de LDL en permettant aux globules blancs de mieux les absorber. Une étude Finlandaise lie une forte consommation de myricétine avec un plus faible taux de cancer de la prostate (Knekt ; 2002). Une autre étude s'étalant sur huit ans, a montré que trois flavonols (le kaempférol, la quercétine, et la myricétine) réduiraient les risques de cancer du pancréas de 23% (Nöthlings ; 2007)

VII. ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES HUILES ESSENTIELLES ET L'EXTRAIT ACETIQUE DE MENTHA ROTUNDIFOLIA

L'activité antibactérienne de nos produits est estimée en terme de diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les produits à testés vis-à-vis de quatre germes pathogènes (*Candida albicans*, *E.coli*, *S.aureus* et *Strep. pyogenes*). L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par Mulai ; 2009. Ils ont classé les diamètres d'inhibition de la croissance microbienne en cinq classes (Mebareki ; 2010)

- Très forte inhibition: $D \geq 30$ mm
- Forte inhibition: $21 \text{ mm} \leq D \leq 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16 \text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice: $11 \text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice: $D \leq 10$ mm

Les résultats concernant l'activité antimicrobienne in vitro obtenue à l'aide de cette méthode montrent que l'activité antibactérienne des HE est en fonction des bactéries cibles. Il s'est avéré que l'extrait d'acétate d'éthyle n'a aucune activité antimicrobienne vis-à-vis des quatre souches testées. Généralement Les polyphénols, tels que les flavonoïdes ont un large spectre antimicrobien.

Aucune zone d'inhibition autour des disques n'a été observée pour *E. coli* et *streptocoque*, ces bactéries possèdent un potentiel de résistance très élevée contre l'action antibactérienne des HEs.

Candida albicans a montré une très grande sensibilité variable aux HEs, la menthe verte a montré l'activité antimicrobienne la plus élevée avec un diamètre d'inhibition de 7cm, suivie par l'HE de la *M.pulegium* avec un diamètre de 6,5 cm, et l'HE de *M.rotundifolia* développe une zone d'inhibition faible vis-à-vis de cette levure avec un diamètre de 3 cm.

S.aureus a présenté une résistance vis-à-vis des trois HEs avec une zone d'inhibition de 2,5cm pour la *M.spicata L*, 2cm pour la *M.pulegium*, et 1cm pour la *M.rotundifolia*.

Tableau 23. Diamètres des zones d'inhibitions

Souches	Diamètre de la zone d'inhibition (cm)			Extrait d'acétate d'éthyle
	<i>M.pulegium</i>	<i>M.spicata L</i>	<i>M.rotundifolia</i>	
<i>Candida albican</i>	6,5	7	3	/
<i>E.coli</i>	/	/	/	/
<i>S.aureus</i>	2	2,5	1	/
<i>Strep. Pyogenes</i>	0,2	/	/	/

/ : Pas d'inhibition

Les composés chimiques : phénols, aldéhydes, alcools et cétones terpéniques sont des substances antibactériennes importantes. La menthe verte et la menthe pouliot renferme des composés terpéniques, cétones et esters contrairement à la *mentha rotundifolia* ce qui explique la plus faible activité antibactérienne de cette dernière.

Conclusion
générale

Les substances naturelles occupent de plus en plus une place de choix en thérapeutique. En effet, les plantes constituent de véritables usines chimiques dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être des populations surtout des plus démunies.

L'extraction des huiles essentielles des feuilles de la *Mentha pulegium*, la *Mentha spicata L* et la *Mentha rotundifolia* par hydrodistillation s'est révélée l'une des techniques plus appropriées par rapport aux rendements relativement assez élevés (2,93 %, 1,97 % et 0,93 % respectivement)

L'étude de l'activité antioxydante des huiles essentielles des trois menthes vis-à-vis du radical DPPH est moyennement faible comparée à celle du BHT. Cette même étude a révélé que l'extrait d'acétate de la *M. rotundifolia* présente un pouvoir antioxydant très important. La concentration efficace de l'extrait acétatique pour réduire 50% du DPPH est de 0,156 mg/ml alors que celle de l'extrait éthanolique est de 0,208 mg/ml. Les flavonoïdes possèdent des propriétés puissantes à piéger les radicaux libres puisque ils agissent à une faible dose.

L'analyse des essences par CPG et GC /SM à montré une différence importantes dans leurs compositions du point de vu qualitatif et quantitatif. Cette analyse a montré l'existence du pulegone (39,47%), comme produit majoritaire de l'huile essentielle de la *M. pulegium* et de la carvone (18,00%) pour la *M. spicata L* ainsi que le cis-piperitone oxide (49,00%) pour la *M. rotundifolia*.

La composition en pourcentage des principales classes de familles de l'HE de la *M. pulegium* révèle qu'elle est riche en cétones (51,39%) suivi par les alcools (13,87%). La *Mentha rotundifolia* est plutôt riche en éther oxyde et en sesquiterpènes hydrocarbonés leurs proportions sont respectivement 59,36% et 12,31%. La *Mentha spicata L* est riche en monoterpènes et cétones (23,88%, 21,95% respectivement).

La présence des polyphénols dans l'extrait acétate possédant une activité importante est mise en évidence par HPLC. Cette dernière a permis l'identification quatre composés deux flavonol (la quercétine et la myricétine), une flavone (la luteoline) et un acide phénol (acide vanillique)

En ce qui concerne le pouvoir antibactérien des huiles essentielles des trois plantes et de l'extrait acétate de la *M. rotundifolia*, montrent que les huiles essentielles de la *M. pulegium* et de la *M. spicata L* ont exercé une importante activité antibactérienne à l'égard de *candida albicans* par rapport à celle de la *M. rotundifolia*. On peut constater que l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. rotundifolia* est faiblement actif sur les souches bactériennes testées.

Enfin, ce travail s'est voulu un complément et un approfondissement de ce qui a été reporté auparavant.

Perspectives

- Elargir l'étude des huiles essentielles de la *M. pulegium*, la *M. spicata L* et la *M. rotundifolia* d'autres régions d'Algérie.
- Suivre la variation de la composition des huiles essentielles en fonction des périodes de croissance des plantes.
- Approfondir l'étude des produits lourds extraits par solvants (identifier les produits lourds).
- Isolement des composés actifs.
- Evaluer et tester les différentes molécules *in vivo* sur différents modèles biologiques en vue de les utiliser à des fins thérapeutiques.
- Une étude plus poussée de l'activité antimicrobienne et antioxydante, il serait intéressant de continuer ces travaux notamment sur d'autres bactéries pathogènes, afin de confirmer l'efficacité ou non des différents extraits.

Références
Bibliographiques

REFENENCES BIBLIGRAPHIQUES

Ait-Ouahioune Ch (2005). Contribution à l'étude de l'effet du substrat sur la composition quantitative et qualitative de l'huile essentielle de *Mentha viridis* L (menthe verte). Thèses d'ingénieur en Agronomie UMMTO.

Anton R et Annelise L (2005). plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles, lavoisier, édition Tec &Doc.

Benayad N (2008). Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agadir.

Bengacemi L et Benhenni R (2005). Extraction de l'*Artemisia Herba-Alba* (armoise blanche). Thèse d'ingénieur U.S.T.H.B.

Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M et Torck M (1986). Les plantes dans la thérapeutique moderne, 2ème édition révisée, Ed. Maloine.

Boukenna M et Bouzidi M (2007). Extraction et analyse de l'huile essentielle de *Mentha viridis*L (menthe verte) et de la *mentha pulegium* (menthe pouliot). Thèse d'Ingénieur en Agronomie UMMTO.

Boukhatem M.N., Hamaidi M.S., Saidi F et Hakim Y (2010). Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du *Géranium Rosat* (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie). *Nature et Technologie*, n° 03.

Boulemtafes-Boukadouml A ; Benaouda1 N ; Derbal1H et Benzaoui A (2008). Analyse énergétique et thermique du processus de séchage de la menthe par énergie solaire *Revue des Energies Renouvelables SMSTS'08 Alger* 89 – 96.

Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A et Lognay G (2007). Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* 11(1)

Brand-Williams W., Cuvelier M. E et Berset C (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol.* **28**: 25-30.

Browning P.R (1971). Chromatographie. Masson et Cie, éditeurs. Paris 6°.

Bruneton J (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Ed. Tech. & doc, Lavoisier, Paris.

Bruneton J (2008). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3^e édition, Tec et Doc, Lavoisier, Paris.

Carvalli J.F (2002). Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN de carbone -13 d'huile essentielle de Madagascar. Thèse de Doctorat, Université de Corse Pascal Paoli.

Chabrier J.Y (2010). Plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie. Doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy 1.

Dapkevicius A (1998). Antioxidant activity of extract obtained by different isolation procedures from some Aromatic herbs grown in Lithuania. Journal of science of food and agriculture, 77: 140-146.

Delattre J., Beaudoux J .L et Bonnefont Rousselot D (2005). Radicaux libres et stress oxydant, Aspect biologiques et pathologiques. édition Tec & Doc, Lavoisier.

Derwich E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O et Touzani M (2010). Comparative Essential oil Composition of Leaves of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* a Traditional Herbal Medicine in Morocco. American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture, 4(1): 47-54.

Dvaranauskaite A., Venskutonis P.R., Raynaud C., Talou T., Viskelis P et Dambrauskiene E (2008). Characterization of Steam Volatiles in the Essential Oil of Black Currant Buds and the Antioxidant Properties of Different Bud Extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 3279-3286.

El Fadl A et Chtaina N (2010). Etude de base sur la culture de la menthe au Maroc.

Elhoussine., derwich., Benziane et Boukir (2010). GC/MS Analysis and Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Mentha Pulegium* Grown in Morocco. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 6(3): 191- 198.

Elicoh-Middleton Jr., Chithan K et Theoharis C (2000). Effect of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart diseases and cancer. Pharmacology and Experimental therapeutics, 4(52): 673-751.

El Kalamouni Ch (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat en sciences des Agro-Ressources. L'Université De Toulouse.

Guy G (2005). Les plantes aromatiques et huile essentielle a graisse, édition l'Harmattan.

Haddouche F et Benmansour A (2008). Article de synthèse: Huiles essentielles et activités biologiques, Application à deux plantes aromatiques. Journal les technologies de laboratoire N°8.

Hoffmann E et Vincent S (2005). Spectrométrie de masse. 3^e édition, BUNOD.

Hamzaoui N (2004). Extraction et analyse d'huiles essentielles d'*Armoise blanche* Algérienne. Magister, U.S.T.H.B.

Hamzaoui N (2010). Etude de la composition chimique de l'*Artemisia Herba-Alba* poussant en Algérie. Thèse de Doctorat U.S.T.H.B.

Kebieche Mohamed (2009). Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante *Ranunculus repens L* : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. Doctorat en biochimie. Université Mentouri Constantine.

Knekt P., Umpulainen J.K., Järvinen R et Coll (September 2002). Flavonoid intake and risk of chronic diseases; *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 76, no 3, , p. 560–8.

Marzouk Z., Neffati A., Marzouk B., Chraief F., Khemiss F., Chekir Ghedira L et Boukef K (2006). Chemical composition and antibacterial and antimutagenic activity of Tunisian; *Rosmarinus officinalis L*. Oil from Kasrine. *Journal of Food Agriculture and environment*; Vol.4, pp 61-65.

Mebareki N (2010). Extraction de l'huile essentielle de *thymus fontanesii* et application à la formulation d'une forme médicamenteuse- antimicrobienne, thèse de magistère en génie des procédés chimique et pharmaceutique, option industrie pharmaceutique UMBB.

Mendham., Barnes et Thomas (2008). Analyse chimique quantitative de Vogel. 6^e édition, de boeck.

Nöthlings U., Murphy SP., Wilkens L.R., Henderson B.E., Kolonel LN (October 2007). Flavonols and pancreatic cancer risk: the multiethnic cohort study; *Am. J. Epidemiol.*, vol. 166, no 8, p. 924–31.

Mohammedi Z (2006). Etude de pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen ,thèse de magister en biologie option Produits naturels ,activités biologiques et synthèse .Université Abu Bakr Belkaid ,Tlemcen

Paris M., Hurabielle.M (1986). Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie.

Popovici C., Ilnka S., Bartek T (2009). Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel 4, 25-39.

Piochon M (2008). Étude Des Huiles Essentielles D'espèces Végétales De La Flore Laurentienne: Composition Chimique, Activités Pharmacologiques Et Héli-Synthèse. Université Du Québec À Chicoutimi.

Rouessac F et Rouessac A (2009). Analyse chimique, méthodes et techniques expérimentales. 7^e édition, DUNOD.

Sharififar F., Moshafi M.H., Mansouri S.H., Khodashenas M et Khoshnoodi M, (2007). In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora Boiss.* Food Control 18, p: 800–805.

Skoog., West et Holler (2002). Chimie analytique. Édition de boeck.

Souri E., Gholamreza A., Farsam H., Jalalizadeh H et Barezi S (2008). Screening of Thirteen Medicinal Plant Extracts for Antioxidant, Iranian. Journal of Pharmaceutical Research, 7 (2): 149-154.

Sutour. S (2010). Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, l'Université de Corse.

Talahagcha Kh et KASSA S (2008). Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*. (menthe pouliot). D.E.S en biologie.

Touafek O (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens. Doctorat en chimie organique. Université Mentouri-Constantine.

Tranchant J(1955). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. 4^e Edition.

Turkmen N., Velioglu Y. S., Sari F et Polat G (2007). Effect of extraction conditions on measured total polyphenol contents and antioxidant and antibacterial activities of black tea. Molecules, 12: 484-496.

Wang J., SunB., Cao Y., Tian Y et Lix (2008). Optimization of ultrasound- assisted extraction of phénolic compounds from wheat bran. Food chemistry; Vol-106; pp 804-810.

Glossaire

GLOSSAIRE

Analgésique: prévient ou diminue la sensation de douleur (antidouleur)

Anticonvulsivants : stoppe les contractions involontaires et transitoires des muscles

Antiparasitaire: détruit les parasites

Antiseptique : substance qui tue les germes ou prévient la croissance des bactéries et des virus sur les surfaces externes du corps

Antispasmodique : permet de lutter contre les spasmes (contractures, crampes, convulsions), agit généralement en empêchant la contraction des fibres musculaires de l'intestin et des voies urinaires

Antiviral: perturbant le cycle de réplication d'un ou de plusieurs virus

Bactéricide : agit sur les bactéries.

BHIB : Milieu de culture à base de cellules de cerveau et de cœur, souvent utilisé pour cultiver des germes à croissance difficile.

Carminative: résorbe les gaz intestinaux.

Coliques: douleur abdominale violente et spasmodique, due souvent à la présence d'un calcul

Convulsivante : produit la contraction violente et involontaire d'un ou plusieurs muscles ; d'un ou plusieurs membres ; voire de tout le corps.

Décongestionnants veineux : faire disparaître l'excès du sang dans les vaisseaux d'un organe ou d'une partie d'organe

Diurétique : favorise l'élimination de l'urine

Eczéma: syndrome caractérisant plusieurs maladies cutanées d'origine immunologique, se manifestant dans sa forme aiguë par des lésions rouges, très prurigineuses.

Fongicides: destinée à détruire des champignons parasites

Hépatotoxique : nocif pour la fonction hépatique ou pour le foie

Infections suppuratives : impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte, la réponse inflammatoire locale et systémique

Immunostimulants: amplifie des réactions de défense de l'organisme.

Insecticide: détruit les insectes

Irritants: détermine de l'inflammation.

La goutte: maladie due à un excès d'acide urique et affectant les articulations

Lancéolées: en forme de fer de lance

Myorelaxants: décontracte les muscles

Aneurotoxiques : toxique pour le système nerveux

Rhumatisme: affection douloureuse des articulations ou des muscles, de nature inflammatoire

Sédatifs: agit contre la douleur, l'angoisse et l'insomnie

Stomachique : facilite la digestion gastrique

Teinture: solution obtenue en laissant une certaine quantité de drogue desséchée au contact d'un solvant pour un temps plus ou moins long

Toniques : fortifiant (physiquement ou moralement)

Annexes

ANNEXE 1

Evolution de la teneur en eau des feuilles

<i>Mentha Pulegium</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	W1	W2	W3	W moy
1	22,560	20,030	14,040	6,050	6,028	6,020	6,024
3	6,700	5,550	2,960	1,094	0,947	0,480	0,714
5	4,660	4,070	2,240	0,456	0,428	0,120	0,274
7	3,380	3,140	2,120	0,056	0,102	0,060	0,081
8	3,340	3,070	2,110	0,044	0,077	0,055	0,066
11	3,300	2,920	2,120	0,031	0,025	0,060	0,042
13	3,250	2,860	2,090	0,016	0,004	0,045	0,024
14	3,240	2,860	2,050	0,013	0,004	0,025	0,014
16	3,240	2,860	2,050	0,013	0,004	0,025	0,014
Masse sèche (g)	3,200	2,850	2,000				

<i>Mentha Rotundifolia</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	W1	W2	W3	W moy
1	20,780	18,250	16,750	4,870	5,207	4,940	5,006
3	9,450	7,240	6,980	1,669	1,463	1,475	1,536
5	5,520	3,940	4,100	0,559	0,340	0,454	0,451
8	3,880	3,120	3,140	0,096	0,061	0,113	0,090
10	3,670	3,110	3,120	0,037	0,058	0,106	0,067
12	3,650	3,100	3,120	0,031	0,054	0,106	0,064
15	3,630	3,080	3,080	0,025	0,048	0,092	0,055
17	3,590	3,040	3,050	0,014	0,034	0,082	0,043
19	3,550	3,010	2,910	0,003	0,024	0,032	0,020
22	3,550	3,010	2,910	0,003	0,024	0,032	0,020
Masse sèche (g)	3,540	2,940	2,820				

<i>Mentha Spicata L</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	W1	W2	W3	W moy
1	17,190	16,980	15,570	5,274	5,931	6,077	5,761
2	11,230	10,050	8,670	3,099	3,102	2,941	3,047
5	3,590	3,000	2,430	0,310	0,224	0,105	0,213
8	2,790	2,490	2,280	0,018	0,016	0,036	0,024
10	2,770	2,470	2,240	0,011	0,008	0,018	0,012
12	2,770	2,470	2,230	0,011	0,008	0,014	0,011
15	2,760	2,460	2,220	0,007	0,004	0,009	0,007
17	2,760	2,460	2,220	0,007	0,004	0,009	0,007
Masse sèche (g)	2,740	2,450	2,200				

ANNEXE 2

Evolution du taux d'humidité des feuilles

<i>Mentha Pulegium</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	Y1	Y2	Y3	Ymoy
1	22,560	20,030	14,040	0,858	0,858	0,858	0,858
3	6,700	5,550	2,960	0,522	0,486	0,324	0,444
5	4,660	4,070	2,240	0,313	0,300	0,107	0,240
7	3,380	3,140	2,120	0,053	0,092	0,057	0,067
8	3,340	3,070	2,110	0,042	0,072	0,052	0,055
11	3,300	2,920	2,120	0,030	0,024	0,057	0,037
13	3,250	2,860	2,090	0,015	0,003	0,043	0,021
14	3,240	2,860	2,050	0,012	0,003	0,024	0,013
16	3,240	2,860	2,050	0,012	0,012	0,012	0,012
Masse sèche (g)	3,200	2,850	2,000				

<i>Mentha rotundifolia</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	Y1	Y2	Y3	Ymoy
1	20,780	18,250	16,750	0,830	0,839	0,832	0,833
3	9,450	7,240	6,980	0,625	0,594	0,596	0,605
5	5,520	3,940	4,100	0,359	0,254	0,312	0,308
8	3,880	3,120	3,140	0,088	0,058	0,102	0,082
10	3,670	3,110	3,120	0,035	0,055	0,096	0,062
12	3,650	3,100	3,120	0,030	0,052	0,096	0,059
15	3,630	3,080	3,080	0,025	0,045	0,084	0,052
17	3,590	3,040	3,050	0,014	0,033	0,075	0,041
19	3,550	3,010	2,910	0,003	0,023	0,031	0,019
22	3,550	3,010	2,910	0,003	0,023	0,031	0,019
Masse sèche (g)	3,540	2,940	2,820				

<i>Mentha Spicata L</i>							
Temps (jours)	M1 (g)	M2 (g)	M3 (g)	Y1	Y2	Y3	Ymoy
1	17,190	16,980	15,570	0,841	0,856	0,859	0,852
2	11,230	10,050	8,670	0,756	0,756	0,746	0,753
5	3,590	3,000	2,430	0,237	0,183	0,095	0,172
7	2,790	2,490	2,280	0,018	0,016	0,035	0,023
9	2,770	2,470	2,240	0,011	0,008	0,018	0,012
12	2,770	2,470	2,230	0,011	0,008	0,013	0,011
14	2,760	2,460	2,220	0,007	0,004	0,009	0,007
16	2,760	2,460	2,220	0,007	0,004	0,009	0,007
Masse sèche (g)	2,740	2,450	2,200				

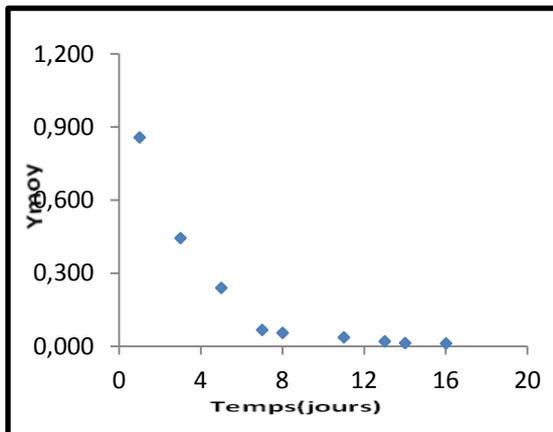
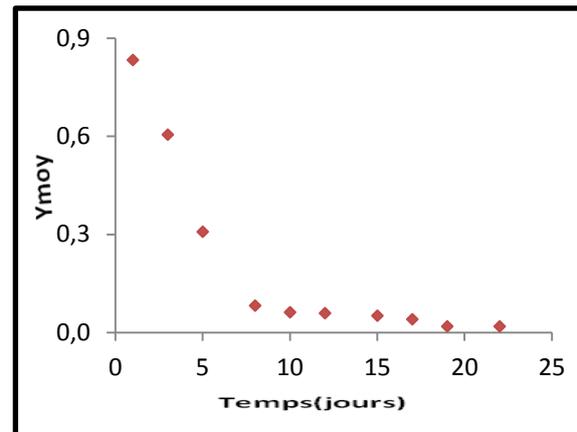


Figure A1. Evolution du taux d'humidité de la *Mentha Pulegium*



FigureA 2. Evolution du taux d'humidité de la *Mentha Rotundifolia*

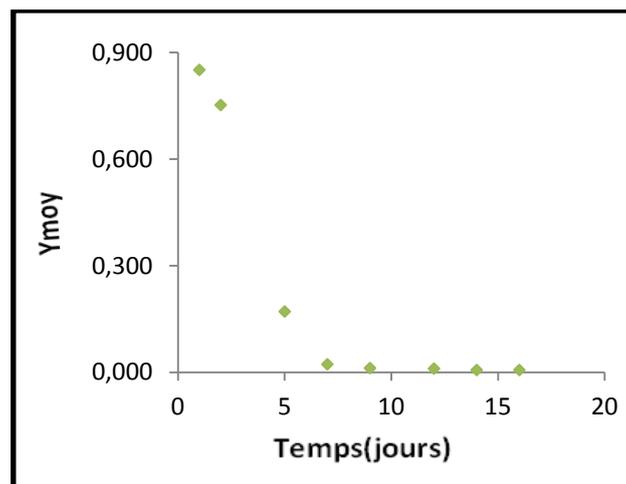


Figure A3. Evolution du taux d'humidité de la *Mentha Spicata L*

ANNEXE 3

Evolution de la vitesse de séchage de fonction de temps

<i>Mentha Pulegium</i>							
Temps (jours)	1	3	5	6	8	9	11
(-dW moy/dt)	1,748	1,748	0,144	0,068	0,027	0,017	0,007

<i>Mentha spicata L</i>								
Temps (jours)	1	2	3	5	6	8	10	12
(-dW moy/dt)	1,441	1,441	1,212	0,605	0,080	0,024	0,020	0,005

<i>Mentha Rotundifolia</i>						
Temps (jours)	1	3	5	8	10	12
(-dW moy/dt)	1,852	1,852	0,279	0,077	0,012	0,005

ANNEXE 4

Absorbances et pourcentages de l'activité antioxydante des huiles essentielles

<i>Mentha Puleguim</i>					
C (µg/ml)	1000	700	500	400	300
Abs	0,383	0,399	0,436	0,45	0,476
CR (%)	33,15	26,78	20,00	17,43	12,66

<i>Mentha spicata L</i>					
C (µg/ml)	1000	700	500	400	300
Abs	0,414	0,44	0,482	0,501	0,519
CR (%)	27,74	19,26	11,56	8,07	4,77

<i>Mentha rotundifolia</i>					
C (µg/ml)	1000	700	500	400	300
Abs	0,37	0,383	0,42	0,444	0,476
CR (%)	35,42	29,72	22,93	18,53	12,66

ANNEXE 5

Absorbances et pourcentages de l'activité antioxydante des extraits
de la *Mentha Rotundifolia*

Extrait éthanolique				
C (µg/ml)	50	100	200	400
Ab	0,4168	0,3449	0,2646	0,1026
% CR	21,254	34,822	50,008	80,616

Extrait Acétate d'éthyle				
C(µg/ml)	50	100	200	400
Ab	0,367	0,3145	0,2068	0,0604
% CR	30,661	40,582	60,929	88,588

ANNEXE 6

Calcul des incertitudes sur les rendements

1- Calcul des incertitudes sur les rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est donné par la relation suivante :

$$R_{HE} \% = [m_{HE} / m_h * (1 - y)] * 100$$

Comme:

$$y = (m_h - m_s) / m_h$$

d'où

Le calcul d'incertitude relative sur le rendement en huile essentielle sera donc :

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{\Delta m_{HE}}{m_{HE}} + \frac{\Delta m_h}{m_h} + \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta m_h}{m_h}$$

L'expression de l'incertitude absolue sera :

$$\Delta R = R \left(\frac{\Delta m_{HE}}{m_{HE}} + \frac{\Delta m_h}{m_h} + \frac{\Delta m_s}{m_s} + \frac{\Delta m_h}{m_h} \right)$$

Huile essentielle de *Mentha pulegium* :

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{0,0001}{2,4808} + \frac{0,01}{100,00} + \frac{0,01}{2,48} + \frac{0,01}{2,75} = 0,007$$

$$\Delta R = 0,020\%$$

Huile essentielle de *Menthe rotundifolia*:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{0,0001}{0,8678} + \frac{0,01}{100,00} + \frac{0,01}{3,29} + \frac{0,01}{3,10} = 0,006$$

$$\Delta R = 0,005\%$$

Huile essentielle de *Menthe spicata* L:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{0,0001}{1,9489} + \frac{0,01}{100,00} + \frac{0,01}{2,48} + \frac{0,01}{2,46} = 0,008$$

$$\Delta R = 0,015\%$$

2- Calcul des incertitudes sur les rendements des extraits secs de *Mentha rotundifolia*:

Le rendement en extraits est donné par la relation ci-dessous :

$$R_{\text{extrait}} \% = (m_e / m_i) * 100$$

L'expression de l'erreur relative sera :

$$\frac{\Delta R}{R(\text{extrait})} = \frac{\Delta m_e}{m_e} + \frac{\Delta m_i}{m_i}$$

L'expression de l'erreur absolue:

$$\Delta R = R(\text{extrait}) \left(\frac{\Delta m_e}{m_e} + \frac{\Delta m_i}{m_i} \right)$$

Extrait de l'éthanol de *Mentha rotundifolia* :

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{0,01}{0,36} + \frac{0,01}{2,00} = 0,031$$

$$\Delta R = 0,56\%$$

Extrait d'acétate d'éthyle de *Mentha rotundifolia*:

$$\frac{\Delta R}{R} = \frac{0,01}{0,15} + \frac{0,01}{2,00} = 0,070$$

$$\Delta R = 0,52\%$$