

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة

Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Matière



Mémoire de fin d'étude

*En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en Chimie*

Spécialité: Chimie pharmaceutique

Thème :

**Etude des l'extractions d'huile essentielle à partir d'une
plante *Mentha rotundifolia L.* de la région de Ain Defla**

Devant le jury composé de :

- F.Z. HALAIMI.....Présidente.
- D. ADDADEncadreur.
- A. ITATAHINEExamineur.

Présenté par :

M : SAHNOUNE Hadjer

M : ZEBBOUDJ Siham

Année universitaire : 2018 / 2019

Dédicace

Louange à ALLAH, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces petits mots.

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde :

À mes très chers parents,

Mes très chers parents qui m'ont offert leur amour et leur soutien et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner persévérance durant toute mes années d'études.

À mon cher époux Khaled Fkaire et ma fille Meriem,

Je vous remercie pour votre soutien, votre patience à mon égard. Les paroles m'échappent, tout simplement un grand merci pour votre grand amour, vos encouragements et vos services.

Merci pour la chaleur humaine que vous m'apportez au quotidien.

À mes chers sœurs et frère : Mohamed, Fella, Khadidja, Ismail,

Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

À toute la Famille Sahnoun et fkaire et tout les enfants (Allaa, Sirine, Taha, Israa, Rabah, Rawan, Amira, Faras, Naim, Khalul, Mohamed, Samah, Djawad, Iyad)

Spéciale dédicace à toutes mes amies, Farah, Fadila, Safia, Soaid

A ma binette **Siham** avec qui j'ai partagé les bons et

les durs moments.

Tous mes camarades de la promotion 2018-2019 Chimie pharmaceutique, tous mes enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études.

HADJER

Dédicace

Je dédie ce modeste travail avant tout à **mes chères parents**, qui ont tout sacrifié pour mon bien et qui ont éclairé ma route par leur compréhension, leur soutien. Je souhaite que ALLAH les garde en bonne et parfaite santé et leur donne une longue vie.

A ma chère sœur : Marwa qui est toujours été présent pour moi. Merci pour votre encouragement et confiance.

Mes très chers frères : Mohamed, Billal, Walid et Marwan qui ont toujours été à mes cotés.

Je n'oublie jamais le générosité illimitée de mes amis : Fairouza, Sabrina, Ratiba, Nadjate, Saida, Hanane.....

Ma grande familles Zebboudj et Terir : A tous mes oncles , mes tantes, mes cousins (Hakima et leurs enfants Aziz et Isaa).

Nous remercions également mon amie **BOUALEM** ,que ALLAH m'a donné sur le chemin de l'aventure.

A la mémoire de ma grande mère et mon grand père.

A ma binette **Hadjer** avec qui j'ai partagé les bons et les durs moments.

A tous ceux qui m'ont encouragé et m'ont apporté leur soutien.

Tous mes camarades de la promotion 2018-2019 Chimie pharmaceutique, a tous mes enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études.

SIHAM

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH ELKARIM et le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qui nous adonné durant toutes les années d'études.

Nous remercions les membres de ce jury: M^{eme}. **HALAIMI** et M^{eme}. **ITATAHINE**
Merci pour avoir acceptée de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à nous travail et pour le temps consacrée afin de l'évaluer.

Le présent travail a été effectué dans le Laboratoire de Génie des procédés à
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana .

Nous remercions également mon amie **FAIZA** du Laboratoire d'analyse privée "**HOUTI**"
de Khemis Miliana pour l'étude antibactérien.

Nous remercions au même titre **BELGACEM** et **RIDA** de laboratoire (CARPC),
pour leurs contributions et leurs aides concernant la réalisation des analyses chimiques des
huiles essentielles.

Nous exprimons mes sincères remerciements **MAMER BESEKRI** qui nous a
apporté la plante et **MOSTAFA** nous a apporté la plante les disques de papier filtre stérile.

Nous exprimons mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à **ADDAD**
Djeloul pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa
disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordait m'ont permet de réaliser ce
travail.

Nous profitons aussi de cet occasion pour adresser nos remerciements à nos sida pour
leur sacrifices et à toutes les familles qui nous ont toujours encouragé et soutenu tout au long
des années d'étude. Nous remercions en fin tous ceux qui n'ont pas été cités dans ces

quelques lignes et qui ont contribués de près ou de loin par leur aide au bon
déroulement de ce travail.

ملخص

هذه الدراسة هي جزء من مساهمة في تبيين النباتات المستخدمة على نطاق واسع في الجزائر: النعناع الروتونديفوليا عن طريق تحديد مركباتها الكيميائية من الزيوت الأساسية (HE)، والخصائص الفيزيائية والكيميائية لمستخلصاتها و تقييم أنشطتها البيولوجية، تم تحديد محصول الزيوت العطرية المستخرجة عن طريق التقطير المائي للأنواع النعناع الروتونديفوليا؛ يختلف حسب مجال العيادة، من 0.35٪ إلى 0.7٪. التحليل الطيفي لكتلة الغاز الكروماتوغرافي (GC / MS) يحدد 72 من مركبات منطقة بومدفا التي تحصد.

المركبات الرئيسية هي أكسيد (30.83٪) Piperitenone (20.88٪) 2Cyclopenten-1-one و (9.83٪) Tetrangulol و (6.04٪) Germacrene-d.

أظهرت دراسة قدرة مضادات الأكسدة في الزيت العطري بالطريقة الجذرية (DPPH •) وجود نشاط مضاد للأكسدة (43.84٪) ومتوسط بطريقة الاختزال باستخدام فيتامين سي القياسي، يسمح الاختبار المضاد للبكتيريا للمستخلصات التي تم الحصول عليها على أربع بكتيريا أن نلاحظ أن المستخلصات لدينا لها نشاط حساس بشكل معتدل في جميع السلالات التي تم اختبارها.

الكلمات الرئيسية: الروتونديفوليا النعناع، من الضروري النفط، النشاط المضاد للأكسدة، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Cette étude s'inscrit dans le cadre d'une contribution à la valorisation de plantes largement utilisées en Algérie : Menthe rotundifolia via l'identification de leurs composés chimiques d'huiles essentielles (HE), les caractéristiques physico-chimique de leurs extraits et l'évaluation de leurs activités biologiques.

Le rendement en huile essentielle extraites par hydro distillation de l'espèce Menthe rotundifolia a été déterminé ; il varie en fonction de la région de culte, de 0,35 % à 0,7 % .

Les analyses par la chromatographie en phase gaz couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) ont permis d'identifier 72 composés de l'espèce récolté de la région de Bomedfaa. Les composés majoritaires sont l'oxide Piperitenone (30,83 %), 2Cyclopenten-1-one - (20,88 %), Tetrangulol (9,83%) et Germacrene-d (6,04), L'étude du pouvoir antioxydant de huile essentielle par la méthode du radical (DPPH•) a montré l'existence d'une activité antioxydant (43.84%) et moyenne par la méthode de réduction avec de standard vitamine C.

Le test antibactérien de extraits obtenue sur quatre bactérie ont permis de constater que nos extraits possèdent une activité moyennement sensibles sur toutes les souches testés .

Mots clés : Menthe rotundifolia , Huile essentielle, Activité antioxydant, Activité antibactérien.

Abstract

This study is part of a contribution to the valorization of plants widely used in Algeria: Mint *Rotundifolia* via the identification of their chemical compounds of essential oils (HE), the physico-chemical characteristics of their extracts and the evaluation of their biological activities.

The yield of essential oil extracted by hydro distillation of the species Mint *Rotundifolia* has been determined; it varies according to the area of worship. The oil yield ranges from 0.35% to 0.7%.

Gas chromatography-mass spectrometry (GC / MS) analyzes identified 72 compounds from the Bomedfaa region. The major compounds are Oxide Piperitenone (30.83%), 2Cyclopenten-1-one - (20.88%), Tetrangulol (9.83%) and Germacrene-d (6.04).

The study of the antioxidant power of essential oil by the radical method (DPPH •) showed the existence of an antioxidant activity (43.84%) and average by the reduction method with standard vitamin C.

The antibacterial test extracts obtained on four bacteria have found that our extracts has a moderately sensitive activity on all strains tested.

Key words: Mint *rotundifolia*, Essential oil, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

Table de Matière

Introduction général	1
-----------------------------------	---

Chapitre I : *Menthe rotundifolia* L.

I.1.Plante médicinale.....	3
I.1.1.Définition.....	3
I.1.2.L'usage des plantes médicinales.....	3
I.2.Généralités sur les Lamiacées.....	3
I.3. Le genre menthe.....	4
I.3.1.La répartition de la menthe par le monde.....	5
I.3.2.Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle.....	5
I.3.3.Les espèces de menthe.....	6
I.4.Menthe rotundifolia.....	7
I.4.1.Présentation de Menthe rotundifolia.....	7
I.4.2.Morphologie.....	7
I.4.3.Critères de choix des plantes.....	8
I.4.4.Classification botanique place « Menthe rotundifolia ».....	8
I.4.5.Répartition.....	8
I.4.6.Usage médical traditionnel.....	9
I.4.7.Propriétés Pharmacologiques.....	9
I.5.L'huile essentielle de Menthe rotundifolia.....	9

Chapitre II : Les huiles essentielles

II.1.Historique des huiles essentielles.....	10
II.2.Définition des HE.....	10
II.3.Propriétés des HE.....	10
II.3.1.Propriétés organoleptiques des HE.....	10

Table de Matière

II.3.2. Propriétés physiques.....	11
II.3.3. Propriétés chimiques.....	11
II.3.4. Les chémotypes des HE.....	11
II.4. Rôles des HE chez les plantes.....	11
II.5. Méthodes d'extractions des huiles essentielles.....	12
II.5.1. La distillation.....	12
II.5.2. Hydrodistillation.....	12
II.5.3. Entraînement à la vapeur d'eau.....	14
II.5.4. L'hydrodiffusion.....	15
II.5.5. Autres procédés.....	15
II.5.5. 1. L'extraction par les solvants volatils.....	15
II.5.5. 2. Extraction au CO ₂ supercritique.....	16
II.5.5. 3. L'extraction par micro-ondes.....	17
II.3. Avantage et inconvénient des différents procédés d'extraction.....	18

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1. Matériel végétale.....	19
III.1.1. Géographique et préparation des échantillons.....	20
III.2. Matériels et produits.....	21
III.3. L'extraction par hydrodistillation.....	21
a) 1 ^{ère} étape : Préparation de Matériel.....	21
b) 2 ^{ème} étape : Hydrodistillation.....	22
c) 3 ^{émet} étape: Conservation de l'huile essentielle.....	23
d) 4 ^{ème} étape : Détermination de rendement.....	23

Table de Matière

III.4.Caractéristiques des huiles essentielles.....	23
III.4.1.Étude des propriétés organoleptique.....	24
III.4.2.Étude des propriétés physico-chimiques.....	24
a)Détermination de la densité.....	24
b) L'indice d'acide.....	25
c) Indice de réfraction.....	26
d) L'indice de saponification.....	26
e) L'indice d'ester.....	27
f) Détermination du pH.....	27
III.5.Caractérisation des huiles essentielles extraites.....	27
III.5.1.Analyse par couplage CG/SM.....	28
III.5.1.1.Principe de la méthode.....	28
III.5.1.2.Conditions Opératoires de l'analyse par CG/SM.....	29
III.5.2.Spectroscopie infrarouge.....	30
III.6.L'étude de l'activité biologique.....	30
III.6.1.L'activité antioxydant.....	30
III.7.L'activité antibactérienne.....	32
III.7.1.Souches bactériennes.....	32
III.7.3.Mode opératoire.....	33
III.7.4.La règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (DZI).....	33

Chapitre VI : Résultats et discussions

IV.1.Introduction.....	34
IV.2.Taux d'humidité.....	34
IV.3.Rendement de extraction.....	35
IV.4.Etude analytique de l'HE de Menthe rotundifolia.....	36
IV.4.1.Caractéristiques organoleptiques.....	36
IV.4.2.Les propriétés physico-chimiques.....	37
IV.4.3.Analyse par couplage CG/SM.....	38
IV.4.5.Analyse de l'HE Menthe rotundifolia par IR.....	41
IV.5.L'étude de l'activité biologique.....	42
IV.5.1.Activité antioxydant d'huile essentielle.....	42
IV.5.2.L'activité antimicrobienne.....	43
Conclusion Général.....	45

Annexe

Référence bibliographies

Liste de tableaux

Liste des figures

Listes des symboles et abréviation

INTRODUCTION

GÉNÉRAL

Introduction général

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribue aux métabolites secondaire qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant un très large éventail d'activités biologiques [1].

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de diverses maladies parce qu'elles contiennent des composants riches en principes thérapeutique [2].

Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. La plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité [3].

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un rôle considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles dans des secteurs très divers, principalement en aromathérapie pour leurs propriétés curatives, ainsi qu'en cosmétique, en parfumerie et dans l'agroalimentaire pour leurs propriétés organoleptiques et antioxydants.

La famille des lamiacées est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antimicrobien et antioxydant [4].

Les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition que de leur rendement. Cette variabilité est fondamentale car les activités qui découlent des huiles essentielles peuvent être très différentes [5, 6, 7].

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutique que représentent les lamiacées. Nous nous sommes intéressés à l'extraction d'huile des parties aériennes de la plante *Mentha rotundifolia.L.* Cette plante est collectée de la région de Boumedfaa dans la wilaya de Ain Defla.

Introduction général

Cette étude est effectuée selon le plant de Menthe rotundifolia travail divisé en deux grandes parties:

- Partie théorique composée de deux chapitres :
 - L'un traitant le botanique de la plante (une simple synthèse bibliographique sur la plante de Menthe rotundifolia).
 - L'autre traitant une généralité sur les huiles essentielles et les différentes méthodes de leurs extraction.
- Partie expérimentale contenant deux chapitres :
 - Chapitre sur matériels et méthodes, nous avons cités toutes les méthodes suivies pour la réalisation de notre travail.
 - Un second chapitre examinant les résultats trouvés ainsi que leurs discussions.

PARTIE
THÉORIQUE

CHAPITRE I

MENTHA

ROTUNDIFOLIA L.

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

I.1.Plante médicinale

I.1.1.Définition

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant des principes actifs différents. À noter qu'il a été observé chez des grands singes la consommation de certaines plantes à usage thérapeutique [8].

I.1.2.L'usage des plantes médicinales

Il y a cinq points essentiels à connaître pour être en mesure d'utiliser une plante médicinale [9]:

- L'identification de la plante (basée sur l'observation des fleurs, feuilles, fruits..... etc , mais aussi sur l'odeur, le goût...).
- Le mode de préparation (partie de la plante à utiliser, type de préparation, dosage de la préparation).
- La posologie c'est-à-dire la quantité de préparation à absorber par jour.
- La durée du traitement.
- Les restrictions, contre-indications et précautions à observer.

I.2.Généralités sur les Lamiacées

La famille des Lamiacées englobe une grande variété de plantes aromatiques, distribuées principalement dans les pays à climat tempéré [10]. Elle comprend environ 220 genres et plus de 4000 espèces, dont le genre Menthe avec ses 25 espèces [11]. La classification taxonomique de ces espèces est très difficile [12], en raison de la grande diversité dans leurs caractères morphologiques [13] et l'hybridation fréquente survenant dans les populations sauvages ou cultivées [14].

Les plantes appartenant à ce genre produisent plusieurs métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols, les terpènes et les quinones [15].

En raison de leurs propriétés utilisées, ces plantes sont utilisées en industrie pharmaceutiques, alimentaire et cosmétique [16].

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

- La menthe est de type des plantes médicinales , elle est de la famille des lamiacées .

I.3. Le genre menthe

La Menthe, du nom latin *Mentha*, font partie des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées ou Labiacées, formée de près de 3500 espèces réparties sur 8 sous-familles [17]. Près de la moitié (47 %) des Lamiacées sont regroupées dans la sous-famille des Nepetoideae. Au sein de la sous-famille des Nepetoideae, la Menthe est représenté par 18 espèces et environ 11 hybrides. L'hybridation intra spécifique est relativement aisée et rend la taxonomie particulièrement délicate [18].

Les Menthes conservent depuis l'antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans les utilisations thérapeutique. Elles fortifient tout le système des nerfs, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible [19].

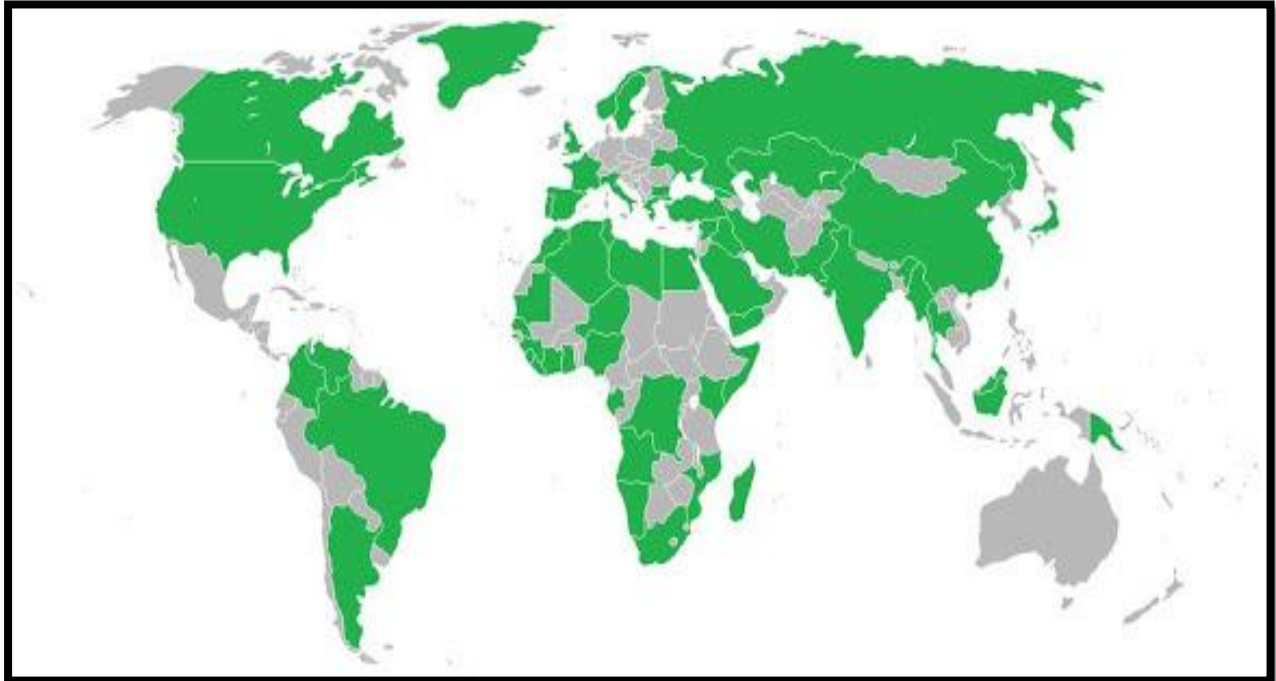
Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces des Menthes doivent leurs odeurs et activités à leurs huiles essentielles ou essences de Menthe, ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important, elles sont souvent extraites des plantes de la race cultivée avec des bons rendements. La Menthe se rencontre dans presque toutes les régions soit à l'état spontané ou cultivé [19].

Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leurs odeurs tout à fait caractéristiques, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les labiées, les Menthes se reconnaissent, en plus de leurs odeurs spéciales, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales [20].

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

I.3.1. La répartition de la menthe par le monde

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (Figure .I.1),[21].



 : la menthe  : Pas de menthe

Figure. I.1.Aire des répartitions de la menthe dans le monde .

I.3.2. Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle

La menthe a été utilisée depuis fort longtemps en nature et pour son huile essentielle. Elle est réputée pour ses propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et digestives (utilisée pour combattre les lourdeurs, les ballonnements, les gaz). Les menthes doivent leurs odeurs et leurs activités à leurs huiles essentielles qui ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques d'origine végétale; grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits de la menthe sont multiples, tant pour leur flaveur (aromatization) que pour leurs odeurs (parfumerie), leur pouvoir rafraîchissant ou leurs propriétés médicinales. Leurs qualités sont strictement choisies en fonction de ces usages. Mais c'est en aromatisation que sont consommés les plus gros tonnages : chewing-gum, tabacs parfumés et cigarettes mentholées, boissons, confiseries, sirop, chocolats [22].

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

Les Anglais et les Arabes sont considérés parmi les plus grands consommateurs au monde de la menthe. Alors que les premiers la transforment en sauces et en gelées pour accompagner le gigot d'agneau, les seconds boivent, à toute heure de la journée, un verre de thé à la menthe bien chaud et bien sucré pour se désaltérer. Pour les marocains, le thé à la menthe est pratiquement « une boisson nationale ». Au Moyen Orient et en Afrique, elle parfume le thé, les salades, les grillades, les yogourts et les légumineuses, les pâtisseries à base de fromage frais.

Quant à leurs utilisations en pharmacopée traditionnelles l'usage de la menthe diffère en fonction des espèces. Mais les propriétés thérapeutiques qu'elle possède sont commune car :

Elle stimule la sécrétion des sucs digestifs, limite les ballonnements et les diarrhées et stimule la sécrétion biliaire, elle est aussi efficace en cas d'inappétence et recommandée en cas de troubles gastriques et de crampes. D'un autre côté, la menthe pouliot agit en tant que produit digestif, carminatif, cholagogue et désinfectant [22].

I.3.3. Les espèces de menthe

Distingue plusieurs espèces de menthe, les principales espèces selon [23].

- Menthe vert « *Mentha viridis* ».
- Menthe poivrée « *Mentha piperita* ».
- Menthe pouliot « *Mentha pulegium* ».
- Menthe à feuilles rondes « *Mentha rotundifolia* ».
- Menthe aquatique « *Mentha aquatica* ».
- Menthe des champs « *Mentha arvensis* ».
- Menthe java « *Mentha javanica* ».
- Menthe du canada « *Mentha canadensis* ».
- Menthe ccépue « *Mentha spicata* ».
- Menthe bergamot « *Mentha citrata* ».

Dans notre étude nous intéressons à l'espèce Menthe rotundifolia connu sous le nom vernaculaire français « Menthe a feuilles rondes », arabe « timerssat », Maroc « Timija » ou « la menthe en épi » [24].

I.4.Menthe rotundifolia

I.4.1.Présentation de Menthe rotundifolia

Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie [25].

La menthe à feuilles rondes ou *Mentha rotundifolia* L. est une plante vivace, que l'on trouve fréquemment au bord des chemins, dans les fossés ou autres lieux humides , elle appartient à la famille des labiées. Elle ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses et ridées avec des tiges, typiques des labiées, est à section carrée. 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 [26].

I.4.2.Morphologie

Les petites fleurs sont rassemblées en épis terminant les rameaux. La hauteur de la plante est de 25 à 80 cm, avec une fleur de 5 mm de long [26]. La floraison est de juillet à septembre [27].

Les menthes s'hybrident avec une grande facilité, de nombreux hybrides sont créés en horticulture [28]. *Mentha rotundifolia*, dont le nom vernaculaire est Timarssat en berbère en arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* [29], alors que d'autres références disent que *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce (Figure. I.2)[30].



Figure. I.2.La plante Menthe rotundifolia récoltée au mois mars 2019, dans la région de Bomedfaa, Willaya de Ain Defla.

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

I.4.3. Critères de choix des plantes

Pour la valorisation dans médecine traditionnelle et vu l'importance de la biodiversité de notre région, on a étudié espèce végétale : Menthe rotundifolia de la famille des Lamiacées.

- Le choix de plante s'est basé sur une étude bibliographique.
- Abondance de ces plantes dans notre région.
- Utilisation traditionnelle dans le traitement des maladies d'origine microbienne.
- La non toxicité des plantes, vu qu'elles sont utilisées dans les préparations culinaires et dans les tisanes.
- Leurs richesses en substances aromatique (huiles essentielles) et polyphénols.

I.4.4. Classification botanique place « Menthe rotundifolia » dans [31]:

Tableau I.1. Classification botanique de la Mentha rotundifolia.

Embranchement	phanérogames.
Sous embranchement	angiospermes.
Classe	Dicotylédones
Sous classe	gamopétales.
Famille	Lamiacées
Genre	Menthe
Espèce	Menthe rotundifolia

I.4.5. Répartition

Menthe rotundifolia croît dans les zones humides près des cours d'eau en basse et moyenne montagne [32]. Elle pousse sous les bioclimats semi-arides et humides à variantes chaudes et tempérées au tour du bassin méditerranéen, en Amérique et en Asie occidentale [33].

Chapitre I : *Mentha rotundifolia* L.

I.4.6. Usage médical traditionnel

La décoction des feuilles est très appréciée dans le traitement des douleurs gastriques, des diarrhées, des refroidissements et des affections respiratoires. En cataplasme ou en inhalation, les feuilles sont recommandées en cas de fièvre [34]. Les abcès et les furoncles sont traités par les feuilles écrasées, ou bien par la décoction des feuilles. Cette dernière préparation en bain de bouche, supprimerait les douleurs dentaires [35].

Aussi, elle est utilisée contre les affections gastriques, Pulmonaires, antispasmodiques, carminatives, insecticides et alimentaires [36].

Cette Menthe est très utilisée en infusion contre les palpitations de l'aorte comme tonifiant. C'est aussi une plante échauffante [37].

I.4.7. Propriétés Pharmacologiques

Cette plante est dotée de propriétés anti-inflammatoire, antiseptique et expectorante. La plus part des travaux effectuées sur Menthe rotundifolia visent à déterminer la composition phytochimique est plus spécialement des huiles essentielles de différents zone dans le monde [38-41].

I.5.L'huile essentielle de Menthe rotundifolia

La composition chimique des huiles essentielles de Menthe rotundifolia poussant dans diverses parties, du monde a fait l'objet de moins d'études comparées aux autres Menthes.

"Cette partie sera détaillée dans le chapitre II (les huiles essentielles et les méthodes d'extractions)" .

Ces travaux démontrent que les huiles sont caractérisées par une forte variabilité chimique, ou les composés majoritaires changent radicalement d'un pays à un autre, voir même au sein d'un même pays. En somme ces travaux rapportent comme composés majoritaires : le pulégone, le menthol, l'oxyde de pipériténone, la carvone... etc. A titre d'exemple, le pulégone était caractérisé comme le composé majoritaire avec un pourcentage qui dépasse les (30%) en Maroc et en Tunisie [42,43], soit par l'oxyde de pipériténone (80.8%) en Uruguay [44] et (85.1-1.3%) en Japon [45].

CHAPITRE II

LES HUILES ESSENTIELLES

ET MÉTHODE DES

EXTRACTIONS

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

II.1.Historique des huiles essentielles

L'huile essentielle est assez universelle, son utilisation date de plus de 7000 ans (on trouve les premières traces chez les aborigènes d'Australie avec fumigation) preuve en est un alambic en terre cuite retrouvé au Pakistan datant de cette époque. On retrouve des inscriptions datant de 4000 ans en Mésopotamie et des écrits Égyptiens datant de 3500 ans. Les Égyptiens obtenaient les huiles essentielles en pressant les plantes [46]. De nos jours, l'aromathérapie retrouve des sources proposées aux médecins ainsi qu'aux recherches faites par les scientifiques (chimistes, agronomes)[47].

II.2.Définition des HE

Ce sont des extraits volatiles et odorants que l'on extrait de certains végétaux par distillation à la vapeur d'eau, pressage ou incision des végétaux qui les contiennent. Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Les huiles essentielles sont des composés liquides très complexes, elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers [48].

Ils sont un mélange complexe de plusieurs composés d'arômes volatiles qui appartiennent aux différentes classes de la chimie organique : phénols(ex : carvacrol), hydrocarbures(composés terpéniques comme le limonène), alcool(ex : linalol),aldéhydes (ex : cinnamaldéhyde), cétone (ex : menthone), esters(ex : acétate de linalyle) et éthers [49].

La norme française AFNOR NF T75-006 définit l'huile essentielle comme : un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerie des citrus et qui sont séparés de la phase par procédés physiques [50].

II.3.Propriétés des HE

II.3.1.Propriétés organoleptiques des HE

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînables à la vapeur d'eau .

Elles sont aussi très odorantes et incolores ou jaune pâle sauf pour les huiles essentielles de cannelle , girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée [51].

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

II.3.2. Propriétés physiques

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche elles le sont dans les solvants organiques et huiles végétales. Leurs densités sont inférieures à « 1 » sauf les huiles essentielles de cannelle, girofle, saffran et ail. Elles sont sensibles à l'oxydation, conservation limitée, à la lumière et à la chaleur. Les huiles essentielles ont des indices de réfraction élevés et des pouvoirs rotatoires [52].

II.3.3. Propriétés chimiques

Les caractéristiques chimiques des huiles essentielles sont magiques. Il en résulte que les HE constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses, aboutissement de ces biosynthèses, en particulier celle des isoprénoides (Monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, caroténoïdes)[53].

II.3.4. Les chémotypes des HE

Le chémotype d'une huile essentielle est une précision qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle. C'est l'élément qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente [54].

II.4. Rôles des HE chez les plantes

Les huiles essentielles ont des fonctions multiples dans la nature. Actuellement, il est difficile de préciser dans tous les cas, néanmoins qu'il semble probablement qu'elles aient un rôle écologique, car dans les régions désertiques, elle conserve l'humidité autour de la plante ce qui empêche la température d'augmenter d'une manière excessive pendant le jour et de baisser au cours de la nuit [55].

En effet expérimentalement, il a été établi qu'elle exerce des interactions sur les végétaux et sur les animaux, ainsi elle constitue un moyen de communication [56], certaines essences attirent les insectes et favorisent la pollinisation tandis que d'autres servent à la défense des plantes contre des prédateurs (herbivores, insectes, micro-organismes)[57].

II.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales .En général, le choix la méthode d'extraction des huile essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile étal fragilité de certains constituants des huiles aux températures élevées [58].

Il existe plusieurs techniques d'extraction les plus importantes peuvent être résumées comme suit :

II.5.1.La distillation

La technique d'extraction des huiles essentielles utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau est de loin la plus utilisée actuelle. La méthode est basée sur l'existence d'un azéotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale [59].

II.5.2.Hydrodistillation

C'est la méthode la plus employée et le plus simple pour extraire les huiles essentielles. La plante est mise en contact avec l'eau dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel, le tout est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs formé sont condensées par un système de réfrigération par courants d'eau ensuite les huile séparent de l'eau par différence de densité en une phase aqueuse et une phase organique (Figure. II.1)[60].

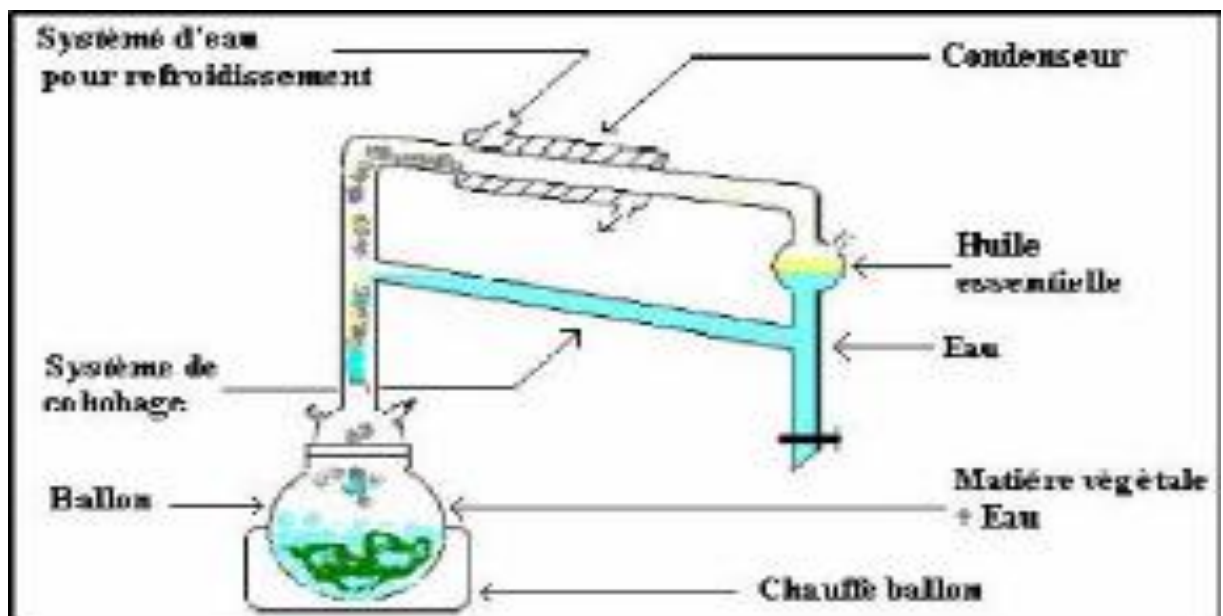


Figure. II.1.Appareillage utilise pour l'hydrodistillation de l'huile (Clévenger).

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

Le procédé consiste à immerger la première végétale dans un bain d'eau l'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique, et comme les HE sont insolubles dans l'eau, mise soluble dans la vapeur, lorsqu'on envoie de la vapeur d'eau sur la plante, elle se charge au passage des huiles [61]:

- Cette méthode est généralement utilisée essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants.
- Elle est aussi utilisée dans l'extraction des huiles à partir des feuilles et des fleurs fraîches ou séchées [62].

La durée d'une hydrodistillation peut considérablement varier, pouvant atteindre plusieurs heures selon le matériel utilisé et la matière végétale à traiter. La durée de la distillation influe non seulement sur le rendement, mais également sur la composition de l'extrait.

Cependant, à cause de l'eau, de l'acidité, de la température du milieu, il peut se produire des réaction d'hydrolyse, de réarrangement, d'oxydation, d'isomérisation...etc, qui peut très sensiblement conduire à une dénaturation [63].

- Décantation :

On la réalise dans une ampoule à décanter dans laquelle le mélange précédent se sépare en deux phases non miscibles. Une phase aqueuse, en général plus dense, se situe dans la phase organique, de densité plus faible et contenant la (ou les) huile (s) essentielle (s) se situe au dessus (Figure. II.2).

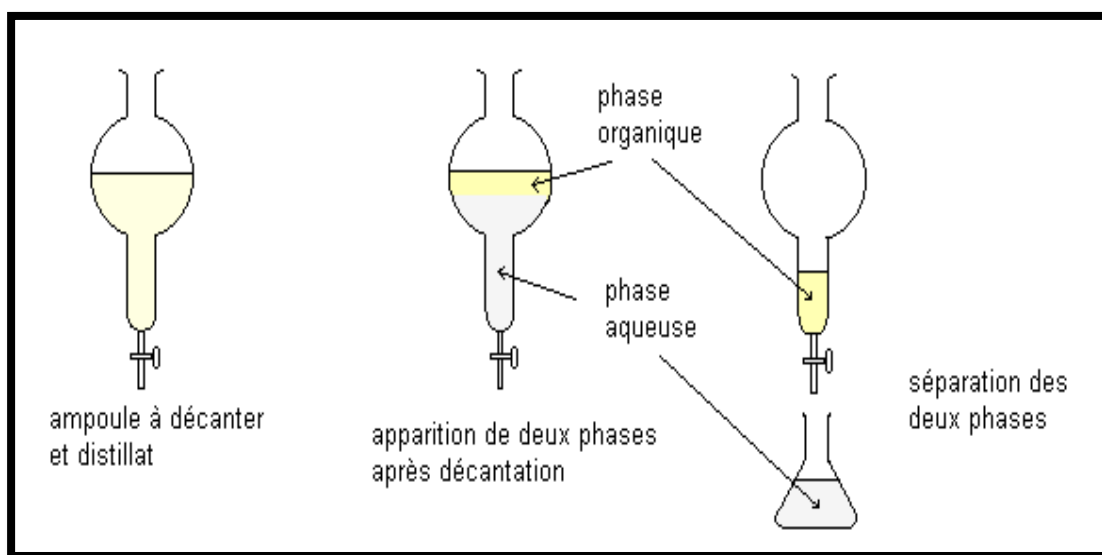


Figure. II.2.Processus de la décantation après hydrodistillation.

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

II.5.3. Entrainement à la vapeur d'eau

Dans cette méthode de distillation la matière végétale située au-dessus d'une grille est traversée par un contact de vapeur d'eau durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation [64].

La partie contenant les composés hydrosolubles est appelée eau de distillation (ou hydrolat ou eau florale), on recueille alors un mélange de composition défini de ces deux produits (Figure. II.3)[65].

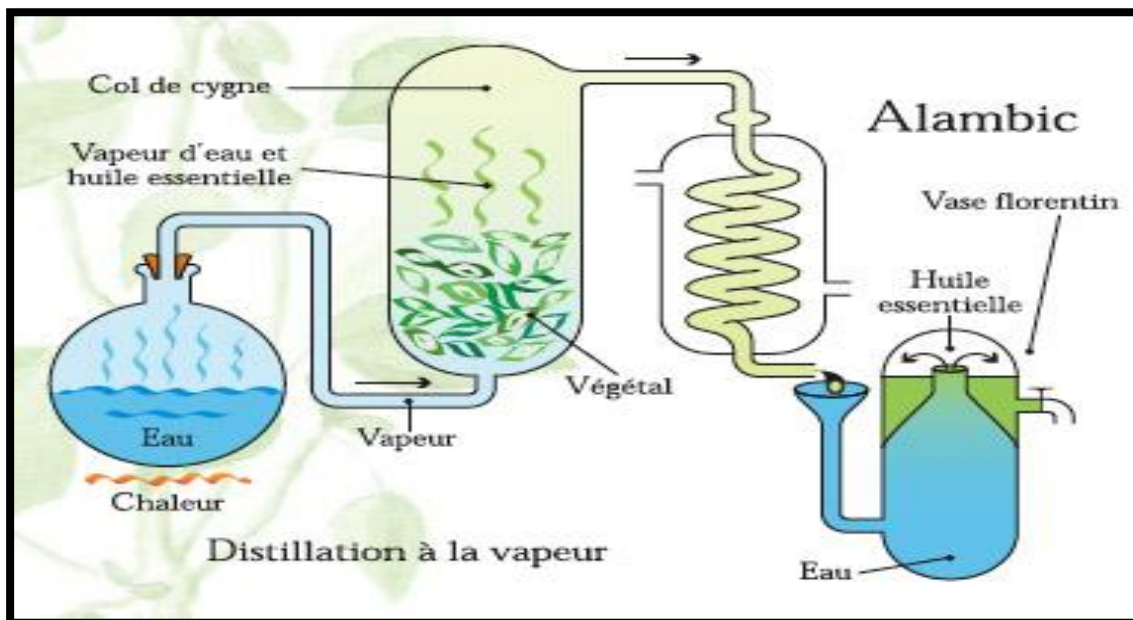


Figure II.3. Appareillage utilisé pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur.

Cette méthode est utilisée dans la distillation à partir des plantes fraîches telles que la menthe et les plantes qui portent leurs huiles essentielles dans les feuilles. Puisque la plante fraîche est riche en eau, donc il n'est pas nécessaire de l'immerger [66].

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

II.5.4.L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, vers le bas. Ainsi le flux de vapeur traversant la biomasse végétale est descendant contrairement aux techniques classiques de distillation dont le flux de vapeur est ascendant(Figure II.4)[67].

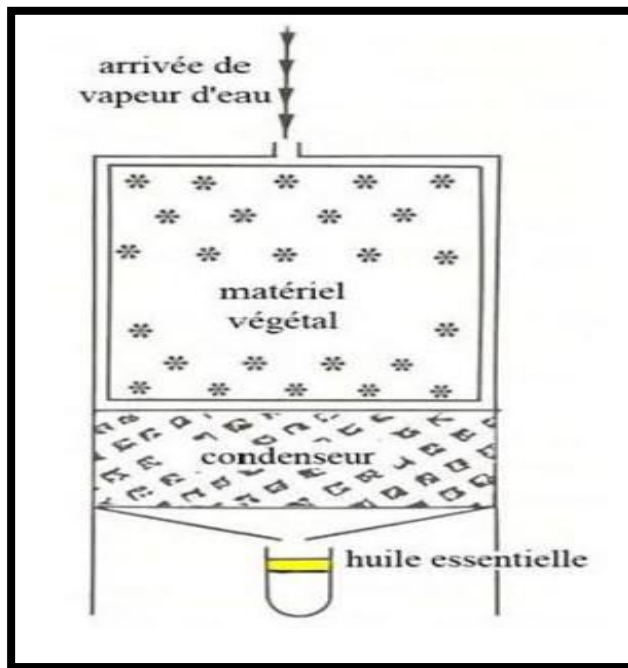


Figure. II.4.L'extraction par hydro diffusion.

II.5.5. Autres procédés

D'autres procédés sont utilisés le plus souvent pour les plantes délicates qui ne supportent pas la chaleur :

II.5.5. 1.L'extraction par les solvants volatils

Certaines huiles essentielles ont une densité voisine se l'eau et le procédé par distillation à la vapeur d'eau ne peut être dans ce cas utilisé le principe consiste à faire macérer la plante dans le solvant à froid afin de faire passer les substances odorantes dans le solvant [68].

Cette technique consiste à placer dans un extracteur un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique [69].

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol moins fréquemment, le dichlorométhane et l'acétone [70,71,72], ces solvant ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau (Figure. II.5).

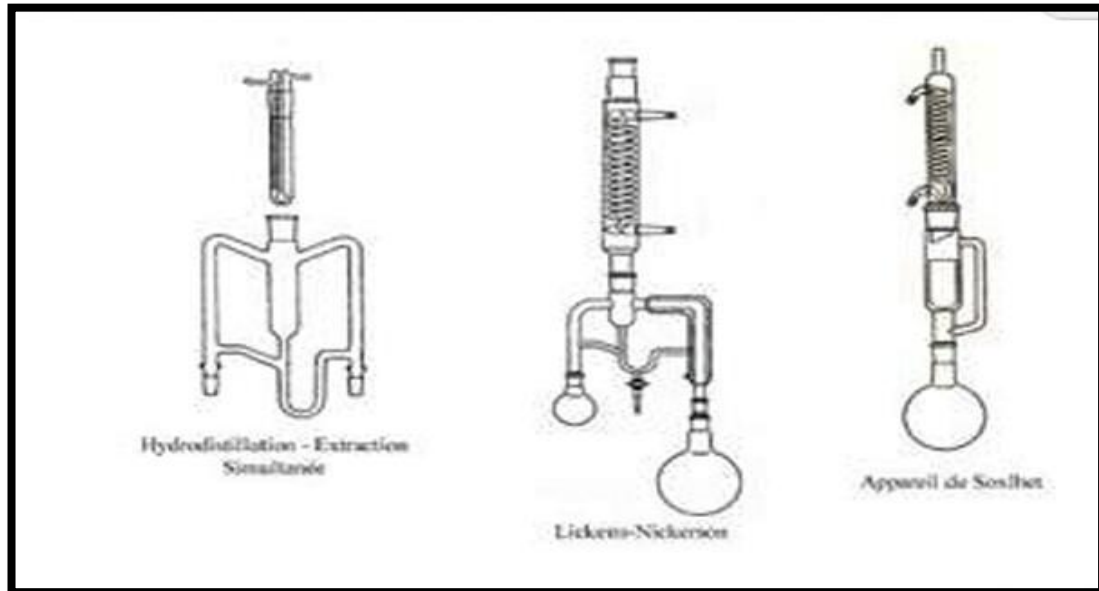


Figure. II.5. Les différents types d'extraction par solvant volatile.

L'extraction par les solvants sont très couteuse à cause du prix de l'équipement et de la grande consommation des solvants leur manque de sélectivité peuvent entrainer de ce fait de nombreuses lipophiles (huiles fixes, phospholipides, caroténoïdes, cires, coumarines) dans le mélange pâteux et imposer lieu, à la toxicité des solvants et leur présence sous forme de traces résiduelles dans l'extrait final [73].

II.5.5. 2.Extraction au CO₂ supercritique

L'extraction par gaz liquéfié ou par fluide à l'état supercritique met en œuvre, généralement le dioxyde de carbone [74]. Le CO₂ possède des propriétés intermédiaires entre celles des liquides et celles des gaz ce qui lui confère un bon pouvoir d'extraction sous pression et à température supérieure à 31°C.

Le gaz carbonique se trouve dans un état dit supercritique intermédiaire entre le gaz et le liquide dans cet état le CO₂ présente la particularité de dissoudre de nombreux composés organiques [75].

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

Le CO₂ est liquéfié par refroidissement et comprimé à la pression d' extraction choisie en suit il est injecté dans contenant le végétal, après le liquide se détend pour se convertir à l'état gazeux pour être conduit vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant (Figure. II.6)[76].

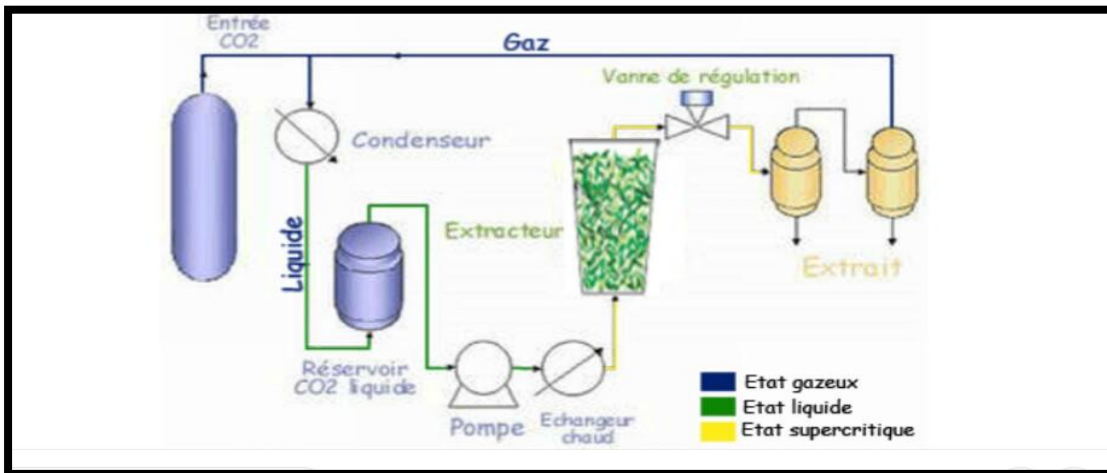


Figure. II.6. Procédé d'extraction au CO₂ supercritique.

II.5.5. 3.L'extraction par micro-ondes

Sous vide cette technique d'extraction a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques [77] est une combinaison de chauffage micro-ondes et d'une distillation à la pression atmosphérique consiste à placer le matériel végétal seul dans un réacteur micro-ondes.

Le chauffage de l'eau contenue dans la plante permet la rupture des glandes renfermant l'huile essentielle. Cette étape libère l'huile essentielle qui est entraînée par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante [78], il est ensuite récupéré à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation (Figure. II.7).

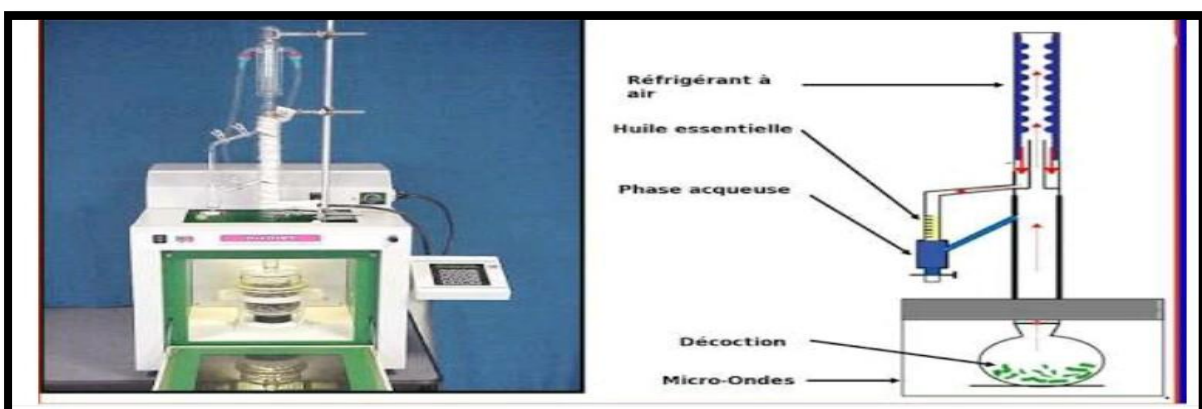


Figure. II.7. Procède d'hydro distillation sous micro-ondes.

Chapitre II : Les huiles essentielles et méthode des extraction

D'un point de vu qualitatif et quantitatif, ce procédé semble être plus compétitif et économique que les méthodes classiques telles que l'hydro distillation ou l'entraînement a la vapeur [79,80].

II.3.Avantage et inconvénient des différents procédés d'extraction

Tableau. II.1.Avantage et inconvénient des différents procédés d'extraction.

procédés d'obtention	Avantages	Inconvénients
Hydro distillation	<ul style="list-style-type: none"> -Rendement des huiles essentielles très élevé. -essences de bonnes qualités ,très concentrés. -contact direct entre matière végétale-eau. 	<ul style="list-style-type: none"> -altération de certaines substances odorantes à la température d'ébullition de l'eau. -perte d'une partie d'essences par évaporation ,oxydation ,dissolution et cyclisation, procédés violent [81].
Entraînement à la vapeur d'eau	<ul style="list-style-type: none"> -réduire l'altération des constituant d'huiles essentielles. -économie énergie de temps d'extraction. -efficacité d'extraction. 	<ul style="list-style-type: none"> -agglutination de la charge végétale sous l'effet de la vapeur d'eau. -réaction secondaire hydrolyse et formation d'artefacts [81].
Micro-ondes	<ul style="list-style-type: none"> -rapidité. -réduction considérable du temps d'extraction. -amélioration du rendement. 	<ul style="list-style-type: none"> -détérioration des constituants odorantes par les micro-ondes qui possèdent une grande énergie de pénétration [81].
Extraction au CO ₂ supercritique	<ul style="list-style-type: none"> -possibilité d'éliminer le solvant par simple détente. -les températures d'extraction sont basses , non agressives pour les constituants plus fragiles. 	<ul style="list-style-type: none"> -Exige une technologie sophistiquée. -matériel et personnel considérable [82].
Solvants organiques volatils	<ul style="list-style-type: none"> -universalité. -procédés doux , non violent principes actifs olfactivement proche du végétale lui-même. 	<ul style="list-style-type: none"> -danger sur l'homme et l'environnement en cas de manque de prévention. -impossible de contrôler les paramètres de pression et de T [81].

PARTIE
EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE III
MATÉRIEL ET
MÉTHODE

Chapitre III : Matériel et méthode

L'ensemble de ce travail a été réalisé aux laboratoires de génie des procédés au sein de l'Université de Khemis- Miliana (Wilaya de Ain Defla) pendant une durée de 03 mois (Mars, Avril ,Mai 2019).

Objectif

L'objectif de notre travail est l'extraction de huile essentielle et caractérisation des huiles essentielles de l'espèce de Menthe rotundifolia.



III.1.Matériel végétale

La plante qui fait l'objet de notre étude est (Menthe rotundifolia).

Opération de traitement :

- Un trait pour éliminer la poussier, les herbes, on récupère les feuilles.
- Les feuilles récupérées ont été lavées plusieurs fois.
- Les parties aériennes de la plante sont séchées pendant 3 à 4 jours à une température ambiante et à l'ombre puis stockées à l'abri de la lumière jusqu'à l'utilisation (Tableau .III.1).

Tableau. III.1.Date et lieu de récolte de la plante Menthe rotundifolia.

Espèce	Frais	Sec	Lieu de récolte	Date de récolte
Menthe rotundifolia			Daïra de Boumedfaa Wilaya d' Ain-Defla	du 11/03/2019 au 07/05/2019.

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1.1. Géographique et préparation des échantillons

L'espèce menthe rotundifolia a été récoltée dans leurs habitats naturels à Boumedfaa de la Wilaya de Ain Defla – Alger .(figure. III.1).



Figure. III.1. Situation géographique de la région de Boumedfaa .

La région de Boumdfaa est située dans la partie orientale de l'état d'Ain Dafla, au sud-ouest de la plaine côtière de Mitijah, entre les montagnes de la Chari'a - Tamazidah et de Jabal Zikar. Elle s'étend sur 128,94k m².

La situation géographique : Située à environ 51 km du siège de l'État "Ain Dafla" et à environ 90 km de la capitale, elle partage des frontières avec de nombreux États et municipalités. Elle est bordée au nord par les municipalités de Hammam Rigga et de Wadjer; Dajjar et Ain Rummaneh, et de l'ouest la municipalité de Husseinia et Ain Al-Bunyan.

En termes de position astronomique, elles sont limitées entre les latitudes 25,2 à 35,2 au nord de l'équateur et entre deux circuits 2,25 à 2,35 à l'est de la ligne de Greenwich.

Chapitre III : Matériel et méthode

III.2. Matériels et produits

Tableau. III.2. Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.

Réactifs chimiques	Verreries
<ul style="list-style-type: none">• (DPPH)1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl .• Solvants (Acétone, HCl (0.2N), Ethanol, DMSO).• KOH de(0.5N).• Eau distillée.• Vitamine C.	<ul style="list-style-type: none">• ballon de 1l.• Pipette.• Burette graduée.• bucher.• tube a esse.

III.3. L'extraction par hydrodistillation

On utilise un montage de l'hydrodistillation type de clévenger.

➤ Mode opératoire

a) 1^{ère} étape : Préparation de Matériel

- Nettoyage du système (clévenger).
- On pèse 50g de feuilles des parties aériennes séchées de plante, finement découpées dans un ballon de 1L, on ajoute de 500 ml d'eau distillée pour éviter les débordements lors de l'ébullition, à une température d'ébullition de 100°C.

b) 2^{ème} étape : Hydrodistillation

- Le chauffe-ballon sera placé sur un support élévateur en position haute. Le système refroidissant sera fixé à un support à l'aide d'une pince et d'une noix et à son extrémité, placer une allonge de distillation. On utilise des clips pour maintenir assemblées les deux pièces en verre. Faire circuler l'eau dans le réfrigérant et chauffer jusqu'à ébullition.

Chapitre III : Matériel et méthode

- Le mélange est porté à ébullition à l'aide du chauffe ballon pendant 4 h.
- Les vapeurs chargées d'huile essentielle et l'eau passent le serpentin de refroidissement où il aura lieu la condensation puis la séparation ce qui résulte l'apparition de deux phases :
 - Une phase organique : l'huile essentielle, très parfumée .
 - Une phase aqueuse : (ou l'hydrolat), l'eau aromatique, légèrement parfumée ayant une densité plus élevée (annexe 1),(Figure III.2).

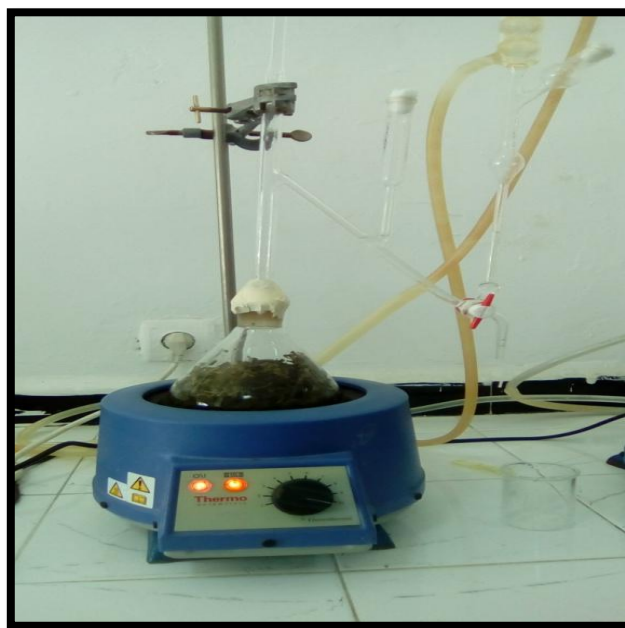


Figure. III.2.Montage de l'hydrodistillation (clévenger).

c) 3^{ème} étape: Conservation de l'huile essentielle

La conservation des huiles essentielles obtenue exige certaines précautions indispensables :

- Une température adéquat .
- Conservation à l'abrite de la lumière.

C'est pour cela qu'on a conservé notre l'huile à une température voisine de 4°C à l'abri de la lumière ,enveloppée de papier d'aluminium, jusqu'à leur usage pour éviter toute dégradation .

Chapitre III : Matériel et méthode

d) 4^{ème} étape : Détermination de rendement

Le rendement en huile essentielle (R_{HE}), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction (M_{HE}) et la masse de la matière végétale utilisée (M_S). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante:

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_S) \cdot 100$$

(Eq. III.1)

R_{HE} : Rendement de l'huile essentielle (%).

M_{HE} : Quantité d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en (g).

M_S : Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

III.4. Caractéristiques des huiles essentielles

Afin d'évaluer la qualité et la composition des huiles essentielles extraites lors de cette étude, des analyses ont été menées pour déterminer leurs propriétés organoleptiques et physico-chimiques. Ces propriétés constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE [83].

III.4.1. Étude des propriétés organoleptique

Les HE sont habituellement liquides à température ambiante et volatiles, plus ou moins colorées (AFSSAPS, 2008). Chaque huile essentielle est caractérisée par des propriétés organoleptiques tels que : l'odeur, l'aspect physique et la couleur [84,85].

III.4.2. Étude des propriétés physico-chimiques

Aujourd'hui, les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester) sont exigées pour leur évaluation commerciale [86].

Chapitre III : Matériel et méthode

a) Détermination de la densité

Pour définir la densité ou la masse volumique de notre huile, on a calculé le rapport entre un certain volume d'huile essentielle et la masse de ce même volume. La densité est ainsi obtenue par (g /cm³).

d : la densité par (g /cm³).

$$d = \frac{m}{V}$$

(Eq. III.2)

m :masse d'huile en (g).

V :volume d'huile en (cm³).

b) Détermination de l'humidité

Le contenu en humidité de partie arienne de notre plante a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve à 105 °C ± 5 °C .

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité} = \frac{Mf - Ms}{Ms} \times 100$$

(Eq. III.3)

Ms : La masse sèche (g).

Mf : La masse fraîche (g).

c) L'indice d'acide

L'indice d'acide (I_A) est la masse d'hydroxyde de potassium (KOH), exprimée en milligrammes, nécessaire pour neutraliser l'acidité libre contenue dans un gramme de substance.

Mode opératoire :

On pèse avec précision 0,2 g d'HE et on les dissous dans 0,8 ml d'éthanol puis on ajoute 3 gouttes de phénol phtaléine , en suite on neutralise le liquide avec la solutions de KOH (0,1N). Contenu dans une burette nous poursuivons l'addition jusqu'à l'obtention du virage persistant de

Chapitre III : Matériel et méthode

la solution (rose) pendant 30 secondes , nous mettons ensuite le volume de la solution de KOH utilisé. Calcul de l'indice d'acide :

$$I_A = \frac{V \times 56,1}{m} \quad (\text{Eq. III.4})$$

V: Volume de la solution de KOH utilisée en ml .

m: Masse de la prise d'essai en gramme .

56,1: Masse molaire de KOH en gramme par (g/mol).

d) Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une huile essentielle est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante

L'indice de réfraction n'a pas d'unité car c'est le rapport de deux vitesses. Plus la lumière est ralentie, plus la matière a un indice de réfraction élevé.

Mode opératoire

- La mesure de l'indice de réfraction des huiles essentielles a été effectuée à l'aide d'un réfractomètre .
- Après nettoyage de l'appareil avec l'eau distillée ou l'alcool, on place 2 ou 3 gouttes d'huile essentielle au milieu du prisme. Puis on regarde dans l'oculaire et le mesure se fait en tournant les boutons de réglage de l'indice de réfraction pour amener les zones sombres et éclairées au centre du réticule, finalement on note la valeur de l'indice .
- L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau 1.3356 .

Chapitre III : Matériel et méthode

e) L'indice de saponification

L'indice de saponification (I_S) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et la saponification des esters présents dans 1 gramme de substance.

Mode opératoire

- Introduction dans un ballon 0,5g de HE, ajouter 10ml de KOH éthanolique de (0,5N) .
- Adapter le réfrigérant et placer le ballon sur un bain marie pendant une heure, Refroidir le ballon.
- L'excès du KOH est neutralisé par l'acide hydrochlorique HCl 0,5N en présence de phénol phtaléine.

L'indice de saponification est donné par la formule :

$$I_S = 56,1 * (V_0 - V_1) / m \quad (\text{Eq. III.5})$$

V_0 : Volume de HCl dans l'essai à blanc en (ml).

V_1 : Volume de HCl en (ml) .

m : Masse de la prise d'essai (g)

f) L'indice d'ester :

L'indice d'ester (I_E) est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans un gramme de substance .Elle est calculée partir de l'indice de saponification et l'indice d'ester selon la relation :

(Eq. III.6)

$$I_E = I_S - I_A$$

Chapitre III : Matériel et méthode

g) Détermination du pH

Le pH exprimé par une valeur numérique, indique si une solution est acide ou basique, il représente aussi la concentration en ions hydrogène d'une solution aqueuse [87]. La détermination du pH est effectuée à l'aide d'un papier pH au lieu d'un pH-mètre en raison de l'insuffisance du produit (huile essentielle). Nous mesurons le pH de l'HE de la plante par papier pH.

III.5. Caractérisation des huiles essentielles extraites

Les huiles essentielles sont des matières premières pour les secteurs de l'industrie pharmaceutique, de l'agroalimentaire et de la cosmétique. La connaissance parfaite de la composition chimique de ces substances permettrait aux professionnels des secteurs précités de pouvoir contrôler leur qualité et de les valoriser. L'identification des composants d'une huile essentielle reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires [88].

III.5.1. Analyse par couplage CG/SM

La simplicité du couplage entre ces deux techniques, les progrès accomplis dans le traitement en temps réel du signal, la constitution de banques de données de spectres de masse et le développement des algorithmes de comparaison entre le spectre d'un composé inconnu avec ceux répertoriés dans la banque sont à l'origine de la généralisation de l'usage de la CG/SM dans les laboratoires d'analyse des composés aromatiques (Figure. III.11)[89].

La spectrométrie de masse permet de transformer des molécules de leur état naturel en ions à l'état gazeux et d'obtenir leur masse moléculaire en analysant leur rapport de masse/charge, noté m/z . Dans le secteur particulier des huiles essentielles, le couplage CG/SM est, aujourd'hui, la technique de référence (Figure. III.3).

Chapitre III : Matériel et méthode



Figure. III.3.Schéma de couplage CG/SM.

II.5.1.1.Principe de la méthode

Le principe de séparation repose sur une différence de répartition des composés d'un mélange entre deux phases, la phase mobile et la phase stationnaire (imprégné dans la colonne). Les composants du mélange injecté dans la colonne et poussé dans celle-ci par le gaz vecteur interagissent différemment avec la phase stationnaire et de ce fait leur progression dans la colonne ne se fera pas à la même vitesse. Ce phénomène d'interaction provoque ainsi la séparation des constituants du mélange. Un système de détection adéquate en sortie de colonne permet de créer un signal qui est enregistré sous forme de "pics chromatographiques"[90].

La combinaison de ces deux techniques d'analyses CPG/SM permet de séparer les composants de l'échantillon et d'identifier chaque composant, donc de faire une analyse complète aussi bien qualitative que quantitative du produit à analyser. L'identification est ensuite réalisée par comparaison des indices de rétention (I_r) et des données spectrales (spectres de masse) des constituants individualisés avec les caractéristiques de produits de référence contenus dans des bibliothèques de spectres.

L'avantage d'un couplage en chaîne d'une interface chromatographique avec un spectromètre est la possibilité d'analyser le spectre individuel d'un composé. Il s'agit de la technique la plus utilisée pour l'analyse des huiles essentielle en raison en grande partie de la facilité de prise en main des systèmes de séparation.

Chapitre III : Matériel et méthode

III.5.1.2. Conditions Opératoires de l'analyse par CG/SM

Tableau. III.3. Conditions Opératoires de l'analyse par CG/SM

Injecteur	Colonne	Détecteur de masse	Equipement
<p>Température : 250°C</p> <p>Mode d'injection : Split 80:1</p> <p>Volume injecté : 0.2 µl</p>	<p>Type : HP-5MS</p> <p>Dimensions : long 30 m * D int 0.25 mm * épaisseur film 0.25 µm.</p> <p>Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% dimethylpolysiloxane. (Autre : Spécifier) .</p> <p>Température du four : 60°C pendant 8 min, 2°C/min jusqu'à 250°C. , isotherme pendant 10 min.</p> <p>Durée d'analyse: 113 min.</p> <p>Gaz vecteur : Hélium</p> <p>Pureté : N 6.</p> <p>Débit GV : 0.5 ml/min.</p>	<p>Mode d'analyse : Scan TIC (de 30 à 550).</p> <p>Délai du solvant : 3.5 min</p> <p>Température de l'interface : 270 °c..</p> <p>Type d'ionisation : Impact électronique</p> <p>Intensité du filament : 70 év..</p> <p>Type de l'analyseur de masse : Quadripôles.</p> <p>Température de la source : 230 °c.</p>	<p>Chromatographe : Hewlett Packard Agilent 6890 plus.</p> <p>Spectromètre de masse : Hewlett Packard Agilent 5973.</p>

Chapitre III : Matériel et méthode

III.5.2.Spectroscopie infrarouge

Est une classe de spectroscopie qui traite de la région infrarouge du spectre électromagnétique. Elle recouvre une large gamme de techniques, la plus commune étant un type de spectroscopie d'absorption. Comme pour toutes les techniques de spectroscopie, elle peut être employée pour l'identification de composés ou pour déterminer la composition d'un échantillon. Les tables de corrélation de spectroscopie infrarouge sont largement présentes dans la littérature scientifique.

IR se situe entre 2 μm et 50 μm en longueur d'onde, mais on utilise dans ce domaine les nombres d'ondes ou termes spectraux, notés $\tilde{\nu}$, exprimés en cm^{-1} [91].

III.6.L'étude de l'activité biologique

III.6.1.L'activité antioxydant

Un antioxydant est défini comme étant toute substance susceptible d'inhiber directement la production, de limiter la propagation ou de détruire les espèces réactives de l'oxygène [92].

Certain constituants des huiles essentielles présentent un antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés : c'est le cas de l'eugénol, du thymol, du carvacol.. etc. Les résultats déjà publiés montrent que les huiles essentielles constituent une bonne source d'antioxydant naturels rechargé pour leur innocuité relative [93,94,95,96].

A cause de la propriété essentielle de l'antioxydant (piégeur des radicaux libres), plusieurs méthodes ont été mises en évidence pour évaluer l'efficacité de l'antioxydant à piéger les radicaux libres (ABTS, DPPH, FRAP).

Chapitre III : Matériel et méthode

- On utilise le radical de DPPH :

Le radical chromogène DPPH \cdot peut réagir directement avec des antioxydants. En effet, la méthode de DPPH \cdot a été utilisée pour évaluer l'activité antioxydant des composés en raison des procédures simples, rapides, sensibles et reproductibles [97]. Les antioxydants sont soupçonnés d'intercepter la chaîne d'oxydation des radicaux libres, de donner l'hydrogène des groupements hydroxyles phénoliques, et de former un produit final stable qui ne déclenche ou propage l'oxydation des lipides [98].

- Test du DPPH

L'activité antioxydant des extraits a été mesurée in vitro par le 2,2'-Diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH), dont le DPPH est un radical libre stable de couleur violacée photométrable à 517 nm. La réduction du radical par un donneur d'atome d'hydrogène conduit à la formation de 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine DPPH-H de coloration jaune. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Figure. III.4)[99].

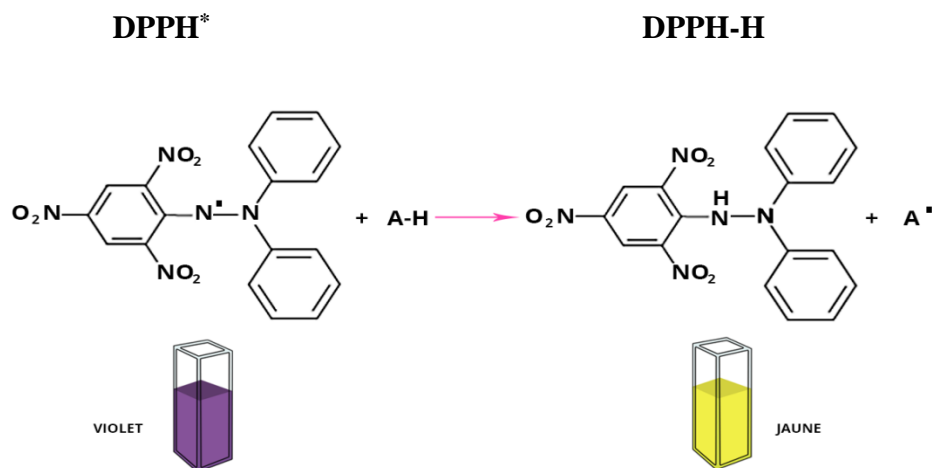


Figure. III.4. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Le test est simple, rapide et ne nécessite qu'un spectrophotomètre UV-VIS à effectuer, ce qui explique probablement son utilisation généralisée dans le dépistage antioxydant. (Annexe2)

Chapitre III : Matériel et méthode

Mode opératoire

- La solution de DPPH a été préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH dans 100ml de éthanol, et agiter pendant 20min.
- Préparation d'une solution mère par un volume de 20µl des huiles essentielles dans 1ml de éthanol et prendre différentes concentrations (1,25, 2,5, 10 et 20µl/ml) a été ajouté à 1ml de éthanol et 1ml de solution DPPH dans les tubes à essai, après incubation de 30min à l'obscurité et à température ambiante.
- Les absorbances ont été mesurées à 517nm contre le contrôle négatif (blanc : solution de DPPH et du éthanol).

III.7.L'activité antibactérienne

La technique utilisée, pour évaluer l'activité antibactérienne de notre HE, est l'aromatogramme ou la méthode de diffusion en milieu gélosé [100]. Cette méthode permet d'évaluer l'activité inhibitrice de croissance des huiles essentielles par la mesure du diamètre d'inhibition autour d'un disque de cellulose imprégné d'huile essentielle ou de produit à base d'huiles essentielles.

De nos jours, leur emploi se fait sur des bases scientifiques et rationnelles puisque de nombreux travaux de recherche portent sur les propriétés antimicrobiennes des HE des plantes aromatiques [101].

III.7.1.Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle Menthe est évaluée sur quatre souches bactériennes de milieux de culture gélose :

- Gram négative : *Klebsiella* spp .
- Gram positive : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp .
- Ces souches proviennent du Laboratoire d'analyse Dr.Houti

Chapitre III : Matériel et méthode

III.7.3.Mode opératoire

La méthode des aromagrammes est la technique choisie pour déterminer l'activité antibactérienne des extraits des plantes. Elle consiste à utiliser des disques de papier stérile de 6 mm imprégnés des concentrations différentes des extraits. Une série de dilutions (1/1, 1/2 , 1/4, 1/8) de l'huile essentielle dans le Diméthyl sulfoxide (DMSO).

L'agar Muller-Hinton (MH) stérile a été coulé dans des boîtes de pétri stériles de 9 cm. 1 ml de l'inoculum préparé à partir de chaque souche est uniformément bien étalé à la surface de l'agar MH. L'excédent de l'inoculum est éliminée par aspiration [102]. Un volume correspondant à cinquante microlitres des dilutions des extraits de l'huile essentielle et aqueux est déposé sur des disques de papier filtre stérile (whatman n°1, 6 mm de diamètre).

A l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface de gélose inoculée et incubée à 37° C pendant 18 heures. Après l'incubation l'effet des extraits se traduit par l'apparition autour de disque d'une zone circulaire transparente correspondant à l'absence de la croissance. Plus le diamètre de cette zone est grand plus la souche est sensible [103].

En parallèle, le DMSO et l'eau distillée sont utilisés (témoins négatifs) afin de vérifier la croissance des différentes souches [104].

III .7.4.La règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition (DZI)

Le résultat est exprimé par le DZI et peut être symbolisé par le Tableau. III.4,[105].

Tableau. III.4.La règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Diamètre d'inhibition (mm)	Signe	Inhibition
D < 8	-	Non sensible
Entre 9 – 14	+	Sensible
Entre 15 – 19	++	Très sensible
D > 20	+++	Extrêmement sensible

RÉSULTAT
ET DISCUSSION

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1.Introduction

Dans cette partie d'étude, l'extraction des huiles essentielles de Menthe rotundifolia, leurs caractérisations organoleptiques, physico-chimiques ainsi que l'examen de leurs propriétés antimicrobiennes et leurs propriétés antioxydants ont fait l'objet de discussion.

IV.2.Taux d'humidité

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (Figure. IV.1),[106].

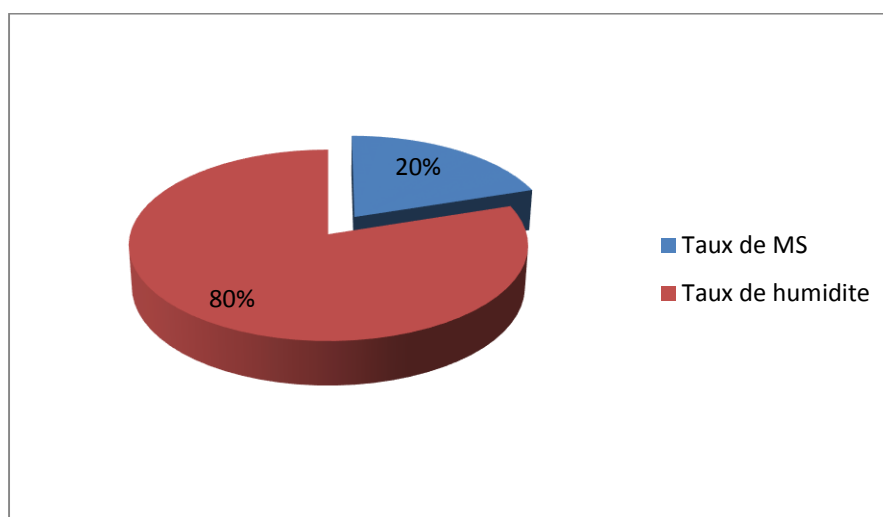


Figure. IV.1.Représentation graphique de taux d'humidité de la plante Menthe rotundifolia.

Les résultats d'analyse de notre échantillon ont révélé que la teneur de l'humidité des feuilles de Menthe rotundifolia est très importante, ce taux signifie que plus de trois-quarts du poids de notre plante fraîche est constitué par l'eau. Nos résultats concordent avec celui rapporté par Mr.Kouache sur le même espèce qui est récolté dans la région d'ouest Algérien estimé à 83,09 % [107].

IV.3.Rendement de extraction

Après d'extraction par l'hydrodistillation et élimination de toute trace d'eau , les rendements de huile essentielle des feuilles de Menthe rotundifolia pendant la période de Mars – Avril –Mai 2019.

Chapitre IV : Résultats et discussions

➤ Les résultats obtenus sont mentionnés sur le tableau. IV.1.d'après (Eq. III.1).

Tableau. IV.1. Variation des rendements de HE extraite par hydrodistillation commun durant les mois de Mars-Avril – Mai 2019.

Mois	Mars	Avril	Mai
R HE (%)	0,35	0,62	0,73

➤ Discussion

D'après le tableau. IV.1 nous pouvons dire que le rendement de HE de menthe rotundifolia atteint une valeur maximale au mois de Mai 0,73 (la période de floraison),

Alors que Mr.Brada trouve un rendement de 0,8% au mois de novembre [30].

La figure. IV.2.montre les rendements de HE de Menthe rotundifolia pendant les mois.

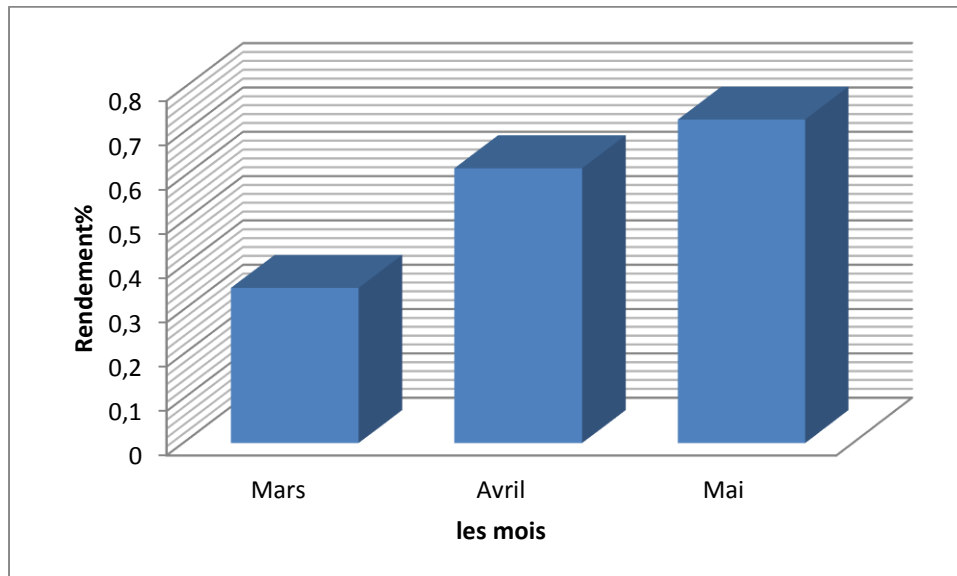


Figure. IV.2. Représentation graphique des rendements de HE de menthe rotundifolia en fonction du mois de Mars- Avril- Mai 2019.

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.4. Etude analytique de l'HE de Menthe rotundifolia

Les propriétés organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nous avons déterminé les caractéristiques organoleptiques, les propriétés physico-chimiques puis nous avons effectué des analyses qualitatives et quantitatives par (CG/SM) de l'HE de Menthe rotundifolia.

IV.4.1. Caractéristiques organoleptiques

Les caractéristiques organoleptiques de HE de Menthe rotundifolia ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence. La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées. Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale en précisant les conditions opératoires des analyses et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des huiles essentielles les plus courants. Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé avec ceux de la norme AFNOR. (2000) pour la même plante [108].

Les paramètres organoleptiques de notre l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation sont résumés dans le tableau. IV.2.

Tableau. IV.2.Caractéristiques organoleptiques de HE de la plante Menthe rotundifolia.

Paramètres	AFNOR (2000)	Résultats obtenus
Aspect	Liquide mobile et limpide	Liquide
Odeur	Epicé ,Pénétrante	Propre a la matière végétale (Pénétrante)
Couleur	Jaune pale	Jaune

A l'issue des distillations, l'HE obtenue est de couleur jaune selon la partie extraite et selon le mode d'extraction avec une odeur pénétrante. Les caractéristiques obtenues par l'HE sont en accord avec ceux rapportées par AFNOR (2000) qui ont analysé les huiles essentielles de Menthe rotundifolia [108].

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.4.2. Les propriétés physico-chimiques

Les paramètres essentiels concernant la qualité de l'HE est bien évidemment les caractères physico-chimiques. Nous avons procédé ces analyses à fin de confirmer la qualité de l'HE de Menthe rotundifolia par les analyses de leur densité, indice de réfraction, indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de saponification et Potentiel d'Hydrogène (pH).

- Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau. IV.3.

Tableau. IV.3.Caractéristiques physico – chimiques de HE de Menthe rotundifolia.

Caractéristiques	Densité	I _A	I _E	I _S	I _R
Résultats	0,901	1,80	75,75	73,15	1,464
Normes (AFNOR)	0,942	1,91	76,63	–	1,5031

Le pH obtenu indique que notre huile extraite par une zone de (5) est acide . L'indice de réfraction est une grandeur qui nous permet d'identifier l'HE, aussi de contrôler sa pureté, en effet un indice de réfraction variant essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [110].

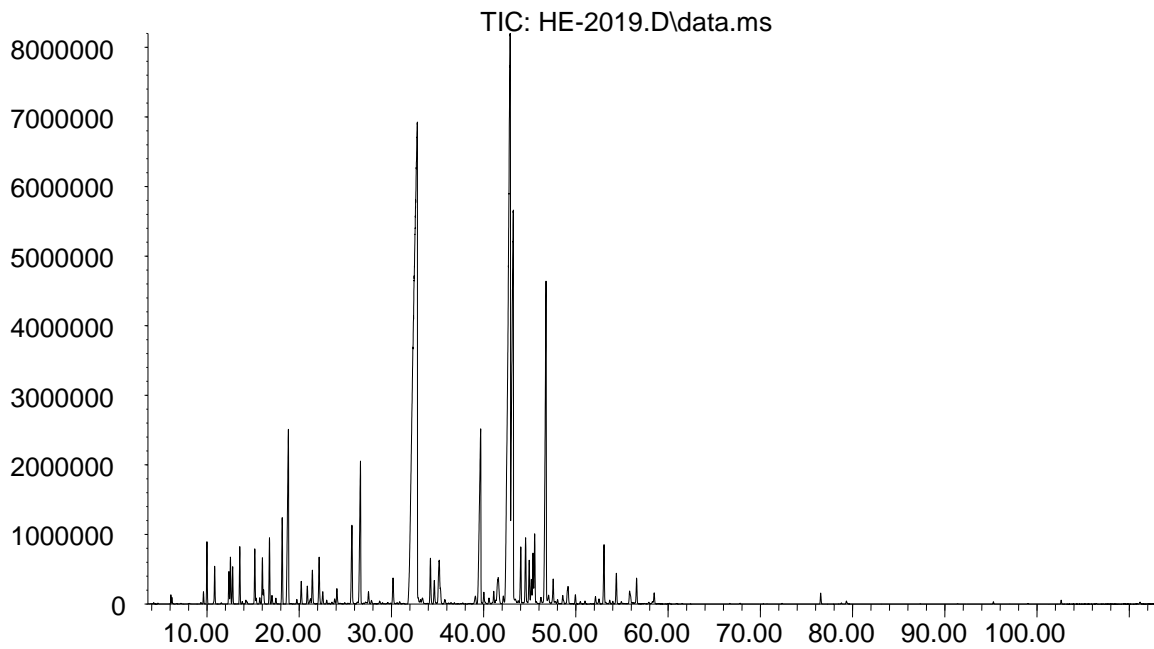
Pour les constantes chimiques, l'indice d'acide donne une idée sur le taux d'acides libres, ce paramètre peut nous aider à savoir la qualité de notre produit. I_A de l'HE extraite de Menthe rotundifolia est de 1,80, un produit à un indice d'acidité très faible est un produit de forte qualité, c.à.d. qu'il présente une faible concentration en acide gras. Quant à l'indice d'ester de notre HE il est de 75,75 très élevé, et I_S est 73,15.

IV.4.3. Analyse par couplage CG/SM

La détermination de la composition chimique de l'HE de la plante Menthe rotundifolia par la méthode chromatographique (CG /SM) est présenté sur la figure. IV. 3.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Abundanc



Time-->

Figure. IV.3. Graphe représente la chromatographie CG/SM de l'HE de la plante Menthe rotundifolia.

La figure. IV.3 représente l'analyse chromatographique par CG/SM de notre huile extraite. Elle montre la présence de plusieurs composés donc l'HE est un mélange de nombreuses molécules chimiques dont chaque une est représentée par un pic. On dénombre 75 composants dans cette l'HE, dont certains sont majoritaires et d'autres sous forme de trace comme le montre le tableau. IV.4.

Chapitre IV : Résultats et discussions

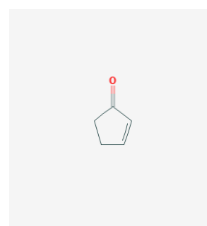
Tableau. IV.4. Les composés majoritaires de HE de la plante *Mentha rotundifolia*.

Numéro	t _R (min)	Composés	Aire(%)
01	10,004	Alpha.- Pinene	0,64
02	12,553	Beta .-Pinene	0,53
03	13,63	Beta .-Myrcene	0,63
04	15,193	Alpha .-Terpinene	0,70
05	16,016	dl-Limonene (Cyclohexene, 1-meth yl-4-)	0,73
06	16,788	cis-Ocimene	0,75
07	18,165	gamma.-Terpinene(4- cyclohexadiene)	1,06
08	18,828	trans-Sabinene hydrate	3,16
09	22,166	1-octen-3-yl acetate	0,65
10	25,721	Borneol (Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol)	1,27
11	26,641	3-Cyclohexen-1-ol (4- Terpinenol)	2,38
12	32,786	oxide de Piperitenone	30,83
13	35,186	Phenol	1,11
14	39,673	3- Methyl -6-isopropy	4 ,15
15	41,587	2,4-Heptadienal	0,82
16	42,873	2 Cyclopenten-1-one -	20,88
17	43,205	Tetrangulol (3-Acetoxy-2)	9,83
18	44,559	3-Penten-2-one	0,88
19	45,542	delta.-Cadinene (Bicyclo[2.1.0]pentane)	0,95
20	46,766	Germacrene-d (1H- Cyclopenta[1 ,3] cyclopropa[1,2]benzene)	6,04

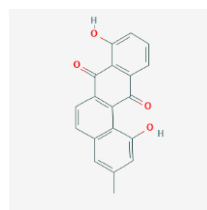
Chapitre IV : Résultats et discussions

D'après le tableau. IV.4 et la figure. IV.3, l'analyse par CG /SM montre que les composés majoritaires de l'HE Menthe rotundifolia obtenu par l'extraction sont principalement :

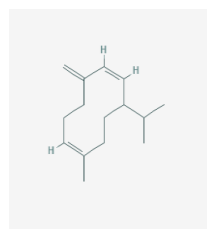
❖ Oxide de Piperitenone (30,83 %) de structure :



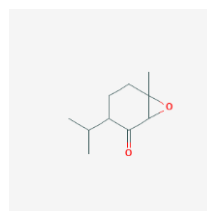
❖ 2 Cyclopenten-1-one - (20,88 %) de structure :



❖ Tetrangulol (9,83%) de structure :



❖ Germacrene-d (6,04%) de structure :



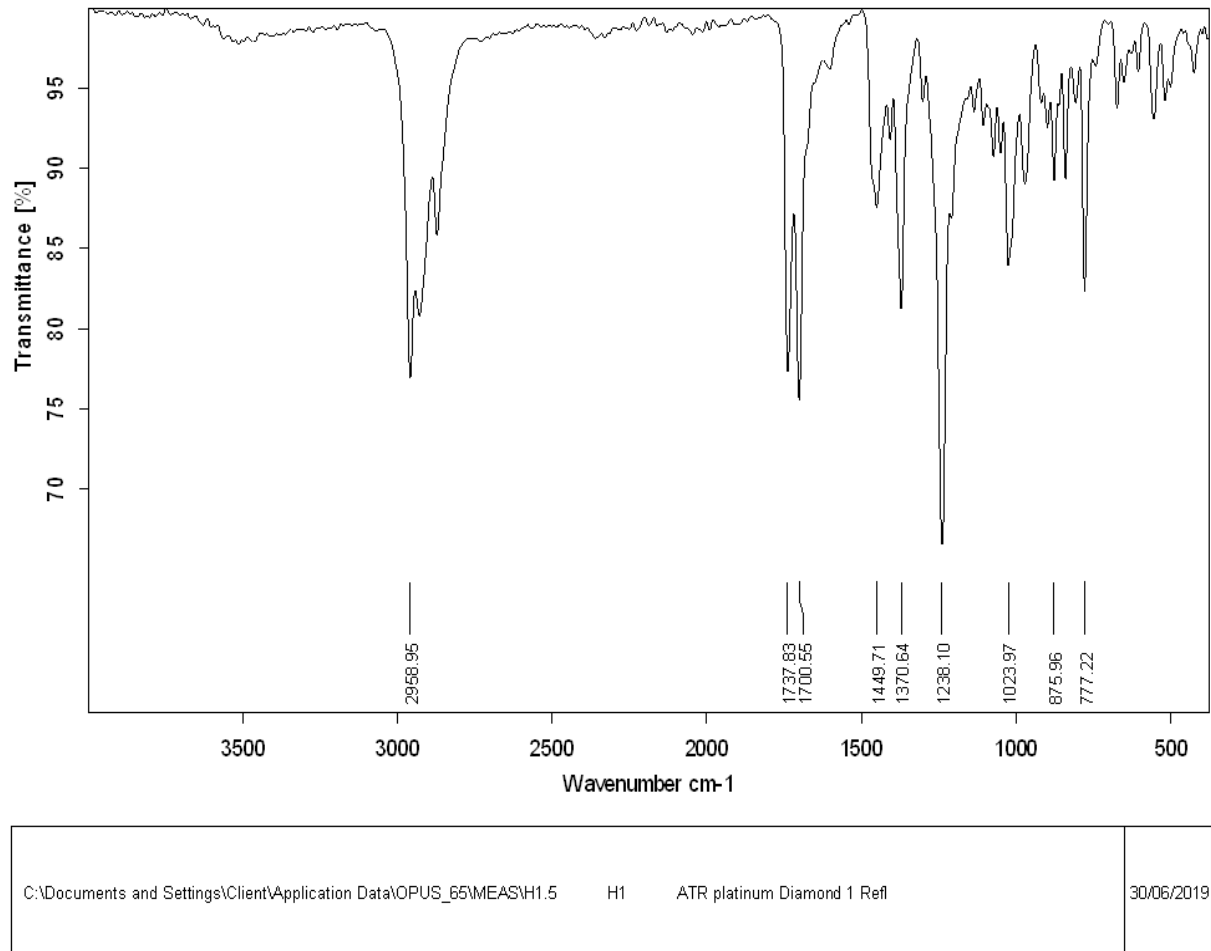
Nos résultats sont comparables à ceux de (Brada et al., 2006) ; effectué sur trois régions en Algérie Chlef, Miliana et Rouina, ces essences de la plante de *Mentha rotundifolia* à la partie aérienne feuilles et tiges présentent les mêmes composés majoritaires (pipériténone et oxyde de pipériténone) [30], dans une autre étude, ou la plante a été récoltée de la région de Bathia wilaya d'Ain Defla –Algérie– (Kouache, 2018) le composé majoritaire est Piperitenone, Oxyde Piperitenone pour la partie aérienne de la plante [107].

Les résultats de la composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* L. obtenue par (El Arch M et al., 2002) récoltée du Maroc ; a révélé une dominance de pulegone 85,5 %, différente à celle de Lorenz D et al (2002) où le pipéritène est le composé majoritaire (80,8%). Selon (Berthias et al., 2014), cette différence de compositions chimiques est due à plusieurs facteurs : type du sol, de la région géographique, du climat, de l'altitude, de la saison de récolte et des méthodes et procédés de distillation [24,13,111].

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.4.5. Analyse de l'HE Menthe rotundifolia par IR

L'HE de la plante Menthe rotundifolia est analysée par spectroscopie IR afin de montrer les différentes liaisons existantes (Figure. IV.4).



Seite 1 von 1

Figure. IV.4. Analyse de la plante de Menthe rotundifolia par spectroscopie IR.

La figure. IV.4 représente en résultats d'analyse, on remarque la présence des fréquences de vibration des liaisons cités dans le tableau. IV.5.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Tableau. IV.5.Fréquences de vibration des liaisons.

N	vibration des liaisons(cm^{-1})	Fonctions
1	2958,95	C-H (CH_2/CH_3)
2	1737,83 et 1700,55	C-O
3	1449,71	C-H (Déformation)
4	1238 ,10	C-H (Aromatique)
5	875,96	C-C (Squelette)
6	1110,07	C-H (Déformation angulaires dans le plan).

L'analyse de la tableau. IV.5 ou révélé la présence des liaisons caractéristique des composés de la famille des alcanes ce qui confirme les résultats trouves par CG/SM.

IV.5.L'étude de l'activité biologique

IV.5.1.Activité antioxydant d'huile essentielle

L'activité antiradicalaire de l'HE de Menthe rotundifolia est évaluée par la méthode de réduction de DPPH , le résultat trouvé sera comparé à l'activité antioxydant de l'acide ascorbique [112].

Le pourcentage de piégeage du radical est calculé selon l'équation (Eq.III.7).

Tableau. IV.6.Variation du pourcentage l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'HE de Menthe rotundifolia.

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1	0,75	0,50	0,25
Absorbance	0.08	0.355	0.533	0.823
Pourcentage d'inhibition (%)	94.36	74.58	61.89	41.20

Chapitre IV : Résultats et discussions

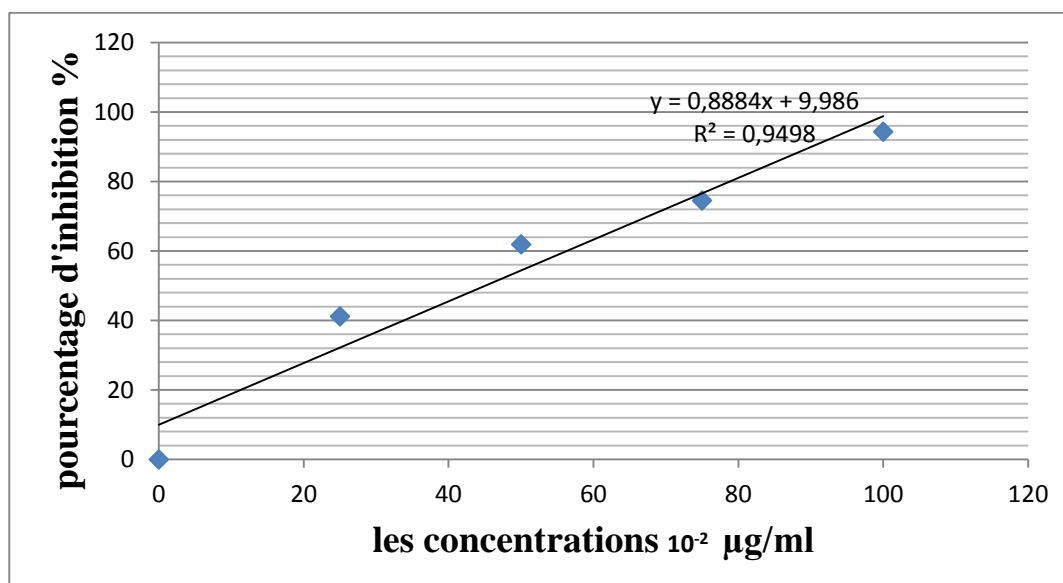


Figure IV.5. Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE de *Menthe rotundifolia*.

La courbe des pourcentages d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de extrait de huile nous ont permis de déterminer les concentrations d'inhibition à 50% (IC_{50}). Celle-ci exprime la concentration de l'échantillon exigée pour réduire le DPPH en solution de 50 %.

La détermination de l'activité anti-oxydante de l'extrait par le test au DPPH a révélé que l'HE de *Menthe rotundifolia* a une activité anti-oxydante de $45.04\mu\text{g/ml}$. Quant à l'acide ascorbique une IC_{50} est de $19.73\mu\text{g/ml}$ [113].

L'activité réductrice de l'HE de *Menthe rotundifolia* est plus que 2 fois inférieure à celle de l'acide ascorbique.

IV.5.2.L'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne de notre huile essentielle de *Menthe rotundifolia* a été faite sur quatre bactéries provenant de la collection du laboratoire d'analyse médicale de a été faite par la méthode des aromatogrammes. Le pouvoir antimicrobien est obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition (mm) (Annexe 3).

Le diamètre de la zone d'inhibition observée autour des disques imprégnés d'HE pure et leurs dilutions après 24 heures d'incubation à 37°C , sont résumés dans le tableau IV.7.

Chapitre IV : Résultats et discussions

Tableau. IV.7. Diamètre d'inhibition des souches bactériennes de l'HE de Menthe rotundifolia

Diamètres Les souches	D(mm) SM	D(mm) S1	D(mm) S2	D(mm) S3	D(mm) S4
Klebsiella spp	13	11	8	8	8
Staphylococcus aureu	17	8	7	8	6
Pseudomonas aeruginosa	8	7	7	7	10
Enterococcus spp	10	11	8	8	8

Selon l'échelle citée par [105], les résultats montrent que l'HE de menthe rotundifolia pure possède une activité antimicrobienne moyennement sur toutes les souches bactériennes testées :

- Toutes les souches bactériennes étudiées sont sensibles à ces huiles essentielles .

Cette sensibilité est différente selon les souches. les souches Klebsiella spp , Enterococcus spp et Staphylococcus aureu est sensibles et la souche Pseudomonas aeruginosa moins sensibles .

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion général

La plante étudiée au cours de ce travail est la Menthe rotundifolia classée dans la famille des Lamiacées et le genre Menthe, la plante a été récoltée dans leurs habitats naturels à Boumedfaa Wilaya d'Ain Defla - Algérie, durant de la période Mars, Avril, Mai 2019.

Cette étude s'intéresse à l'extraction d'huile essentielle. Il existe plusieurs méthode d'extraction à est fait par des parties aériennes séchées de plante , nous avons opté pour l'hydrodistillation vu les avantage qu'elle présente.

Les résultats d'extraction montrent un rendement de 0,35% à 0,7% .

Les analyses physico-chimiques d'huile obtenue enregistrent :

- Une densité : 0,901
- Indice d'acide :1,80
- Indice saponification :73,15
- Indice réfraction :1,464
- Indice d'ester : 75,75

L'analyse par GC/MS a permis d'identifier 72 composés, notre huile est riche en Oxide Piperitenone (30,83 %), 2Cyclopenten-1-one - (20,88 %), Tetrangulol (9,83%) et Germacrene-d (6,04%). Elle peut être utilise :

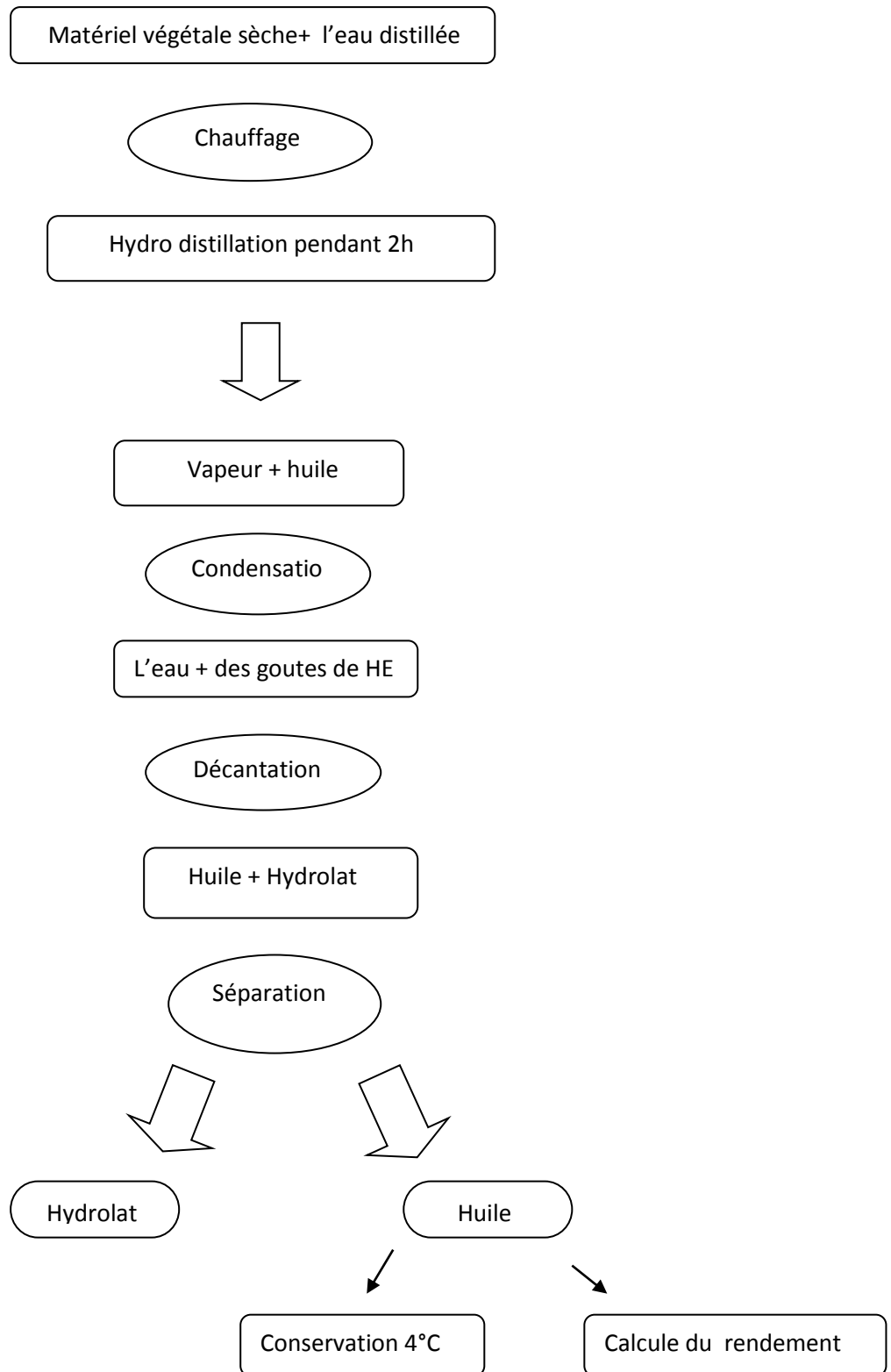
(Hhypotensive, Vasodilatateur, Bradycardie), une activité sur les centres nerveux sympathiques (relaxant, stimulant , dépressant), des propriétés antibactériennes et antifongiques, et agit aussi comme agent retardant la reproduction du vecteur de malaria Anopheles stephensis [114].

L'oxyde de pipériténone est également intéressant pour la synthèse des hétérocycles, de pyrazoles, de pyrazolines et d'alcools allyliques [115].

L'analyse par IR présence des liaisons caractéristique des composés de la famille des alcanes ce qui confirme les résultats trouves par CG/SM.

L'étude d'extraction d'huile de plante Menthe rotundifolia Permet de constaté une richesse en information concernant la nature d'huile extraite et son utilisant thérapeutique et industrielle, le travail nécessite une suite à fin d'examiner l'application de cette huile dans le domaine thérapeutique.

Annexe 1 : Protocole expérimental d'extraction des huiles essentielles.



Annexe02 : Spectrophotométrie (UV)



Annexe 03 : Effet antibactérienne des dilutions de l'HE sur différentes souches bactérien.



Effet des dilutions de l'HE de menthe rotundifolia sur *Pseudomonas aeruginosa*.



Effet des dilutions de l'HE de menthe rotundifolia sur *Enterococcus* spp .



Effet des dilutions de l'HE de menthe rotundifolia sur *Staphylococcus aureus* .



Effet des dilutions de l'HE de menthe rotundifolia sur *Klebsiella* spp .

Annexe 04 : Les appareillages utilisées

Appareillages

- Balance de précision.
- Chauffe ballon.
- Clévenger.
- Micropipettes .
- Plaque chauffante.
- Spectrophotomètre de masse.
- CG/SM.
- Spectrophotomètre IR.
- Les boites pitres.
- Les disc (d=6mm).

Références bibliographies

- [1] Zeghad N. Etude de contenu polynolique de deux plantes médicinales d' intérêt économique (thymus vulgaris, Rosamariuns officinalis) et évaluation de leur activité antibactérienne. Université Mentouri Constantine (2009).
- [2] Khaldi A., Meddah B., Moussaoui A., Benmehdi H. Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement in vitro des moisissures. European Journal of Scientific Research 80(3): 311-321.(2012).
- [3]. Moutinho C. Antispasmodic activity of aqueous extracts from Mentha piperita native from Trás-osMontes region (Portugal). International Journal of Indigenous Medicinal Plants 29(1): 1167-1174. (2013).
- [4] Bouhdid S., Idaomar M., Zhiri A., Baudoux D., Skali N.S. et Abrini J ., 2006. Thymus essential oils: chemical composition and in vitro antioxidant and antibacterial activities. Congrès international de biochimie, Agadir, Maroc, 09-12 Mai 2006.
- [5] Garnero J. Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. Ed. Encyclopédie des médecines naturelles. Paris. France. pp 2-20. 1991.
- [6] Bruneton J. Pharmacognosie et phytochimie, médicinal plantes Paris, Lavoisier. (1999).
- [7] Benini C. Contribution à l'étude de la diversification de la production des huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, pp109. (2007).
- [8] Jean Bruneton, Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, Techniques et Documentation, 3e édition, 1999.
- [9] Code de la santé publique, article D4211-13.
- [10] Derwich E., Chabir R., Taouil R. and Senhaji O. In-vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of Mentha piperita (Lamiaceae) from Morocco. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 3(2): 130-136. (2011).
- [11] Arijit S. and Arpita B. Documentation of some ethno-medicinal plants of family Lamiaceae in bankura district, West Bengal, India. International Research Journal of Biological Sciences 2(6): 63-65. (2013).

- [12] Denslow M.W. and Poindexter D. B. *Mentha suaveolens* and *M. rotundifolia* in north Carolina: a clarification of distribution and taxonomic identity. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 3(1): 383-389. (2009).
- [13] Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E., Davies P., Vila R. and Congueral S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay. *Brazilian archives of biology and technology* 45(4): 519-524. (2002).
- [14] Šarić-Kundalić B., Fialová S., Dobeš C., Ölzant S., Tekeľová D., Grančai D., Reznicek G., Saukel. J.) (. Multivariate numerical taxonomy of *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. *Scientia Pharmaceutica* 77: 851-876. 2009.
- [15] Erum S., Naeemullah M. and Masood S. Phenotypic variation among *Mentha* spp. *Pakistan J. Agric. Res* 25(1): 55-61(2012).
- [16] Andro A. R., Atofani D., Boz I., Zamfirache M., Burzo I. and Toma C. Studies concerning the histoanatomy and biochemistry of *Mentha Longifolia* (L.) Huds. During vegetative Phenophase. *Analele științifice ale Universității Al. I. Cuza” Iași* (2): 25-30. (2011).
- [17] Bruneton J., - *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales*. Paris, Lavoisier, 623p. 1993.
- [18] Tucker, AO Et RFC Naczi. *Mentha : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations*. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. *Du Genre Mentha* . 16-17. 2007.
- [19] Il Edrissi A., Thèse De Troisième Cycle: Etude Des Huiles Essentielles De Quelques Espèces *Salvia*, *Lavandula* Et *Mentha* Du Maroc, Faculté Des Sciences De Rabat, Maroc, 1982,18-22.
- [20] Nisrin Benayad, Thèse Sur: Les Huiles Essentielles Extraite Par Plantes Médicinales Marocaine : Moyen Efficace De Lutte Contre Les Ravageurs Des Denrées Alimentaires Stockées, Université Mohammed V– Agdal De Rabat, Novembre 2008, 13-30.
- [21] Yvan T., *Pharmacologie* 8ème Edit. Masson. Paris-Milan-Barcelone ; 388 p. (1997).
- [22] Abdellatif El Fadel & Noureddine Chetani, ‘ *Etude De Base Sur La Culture De La Menthe Au Maroc*, 2010.

[23] <http://www.plantames.unimebl.edu.eau/Mentha.html> 2005

[24] El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M. and Talbi M. Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 50(3): 267-274. (2003).

[25] Bineau M.S. Aromathérapie, <http://www.Biogassendi.com>. (2002)

[26] N. Benayad, "Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées," Mémoire, Université Kasdi Merbah, Ourgla, 2008.

[27] M. Benbouali, "Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*," Mémoire de magister, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, 2006.

[28] "<http://flore.lecolebuissonniere.eu/page99.html>".

[29] D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila, and S. Cañigüeral, "Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay," *Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J.*, vol. 45, no. 2, pp. 519–524, 2002.

[30] M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, A. Carlier, and G. Lognay, "Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie," *Biotechnol. Agron. Soc. Env.*, vol. 11, no. 1, 2007.

[31] Iserin P, Masson M, Restellini JP, Restellini Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin», Larousse-Bordas. (1995).

[32] El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen M. and Talbi M. Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Botanica Gallica* 50(3): 267-274. (2003).

[33] Derwich E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O. and Touzani M. 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. (2010).

[34] Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M. et Hseini S., Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental), *Lejeunia*, N° 186. (2009).

- [35] Boukef M.K. Médecine traditionnelle et pharmacopée : les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne - A.C.C.T, Tunisie, 350 pp. (1986).
- [36] Hmamouchi M., Les Plantes médicinales et aromatiques Marocaines : Utilisations, biologie, écologie, chimie, pharmacologie, toxicologie-Imprimerie de Fédala, Mohammedia (Maroc), 389 pp. (1999).
- [37] EL Rhaffari Lhoussaine, Catalogue des plantes potentielles pour la conception de tisanes. Maroc, "Empowering the Rural Poor by Strengthening their Identity, Income Opportunities and Nutritional Security Through the Improved Use and Marketing of Neglected and Underutilized Species" . (2008).
- [38] Venskutonis PR. A chemotype of *Mentha longifolia* L. from Lithuania rich in piperitenone oxide. *J Essent. Oil Res.* 8, p. 91-95. (1996).
- [39] Daniel L., Daniel P., Eduardo D., Davies P., Villa R., and Canigual S., Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* From Uruguay. *Brazi. Arch. Biol and Technol*, 45: 519-524. (2002).
- [40] Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Poiissiou M., Adiguzel A., et Ozkan H., Antimicrobial and antioxidant properties the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia*. *Food Chemistry*, 103, 1449-1456. gy, 29, 130-135. (2007).
- [41] Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A., and Lognay G. Chemical composition of the leaf oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria. *J. Essent Oil Res.*, 18 (6): 663-665. (2006).
- [42]] M. EL Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal, M. Blaghen, and M. Talbi, "Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc," *Acta Bot. Gallica Bot. Lett.*, vol. 150, no. 3, pp. 267-274, 2003.
- [43] L. Riahi, M. Elferchichi, H. Ghazghazi, J. Jebali, S. Ziadi, C. Aouadhi, H. Chograni, Y. Zaouali, N. Zoghلامي, and A. Mliki, "Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia," *Ind. Crops Prod.*, vol. 49, pp. 883-889, 2013.

- [44] D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila, and S. Canigueral, "Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay," *Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J.*, vol. 45, no. 4, pp. 519–524, 2002.
- [45] S. Fujita and K. Nezu, "Components of essential oils of *Mentha rotundifolia* (linn.) huds. ii(studies on the essential oils of the genus *Mentha*. Par,"," *Agric. Chem. Soc.*, vol. 59, no. 7, pp. 703–706, 1985.
- [46] Yuerdon, M. *la médecine naturelle au service de votre beauté et santé*, 2-3, Edition suisse. (2004).
- [47] Abdali M, Chebbour A étude des huiles essentielle de la plante de mentha piperita et tester leurs effets sur un modèle biologique des infusoires. (2014).
- [48] Benayad, N. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes Marocaines et activité anticancéreuse. Doctorat en chimie organique. Univ Mohammed V. Rabah. (2008).
- [49] Oussalah, M, caillet, S. Saucier, L. and Iacox, M. Inhibitory effects of selected plant essential oils on four pathogen bacteria growth: *E. coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*. 18 vol (5), p: 414-420. (2007).
- [50] Garner, J. *Huiles essentielles. Dossier : K345. Base documentaire: Constantes physico-chimiques. vol. papier n°: K2.* (1996).
- [51] Franchomme P. et Pénéol D. *L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles.* Roger Jollois Éditeur, France, 1990.
- [52] Seenivasan Prabuseenivasan, Manickam Jayakumar et Savarimuthu Ignacimuthu, *In vitro antibacterial activity of some plant essential oils, Complementary and Alternative Medicine*, 2006, 6:39
- [53] Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; Martínez, J.R., *Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae*, *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exactas Fis. Nat.*, 2003, 27, 105, 579-597.

- [54] Huiles essentielles (livre et ses 38 cartes) par Françoise Elliott aux Editions Trédaniel, 2008.
- [55] Belaiche P. traité de phytothérapie et d'aromathérapie, l'aromatogramme .Maloine tome1, Paris. (1979).
- [56] Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques et Documentons. 2eme Ed. Lavoisier. Paris-France. (1993).
- [58] Hellal Zohra. Contribution à l'étude des propriétés antimicrobiennes. (2010).
- [59] Piochon, M. Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique ,activité pharmacologiques synthèse .Mémoire. Université du Quebec à Chicoutimi ,Canada. (2008).
- [60] Ochoa ,H. Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combiné « solvant/actif ». D'origine végétale. Thèse de Doctorat de l'institut National polytechniques de Toulouse .France. (2005).
- [61] Fasty, D. Ma bible des huiles essentielles. Leduc Editions. p: 20. (2007).
- [62] Bouhadouda, N: Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium..Diplôme de Doctorat ,Univ Badji Mokhtar, Annaba. .(2016).
- [63] Brian ,M.L. The isolation of aromatic materials from plant products, R,J,Reynolds Tobacco Company, Winston-Salem(USA), P :57-148. (1995).
- [64] Bruneton, J. Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p: 915. (1993).
- [65] Dastmalchi, K. Damien Dorman, HJ. Oinonen, P.P. Darwis, Y. Laakso, I. Hiltunen, R. Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. Food. Sci. tech LWT. Vol 41 (3), p :391-400. (2008).
- [66] Bouhadouda, N. Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : Origanum vulgare et Mentha pulegium..Diplôme de Doctorat ,Univ Badji Mokhtar, Annaba. (2016).

- [67]Kessbi ,A.Etude des propriétés physicochimique et évaluation de l'activité biologique des huiles essentielles d'eucalyptus globulus dans la région de Ouargla. (Master en Génie des Procédés, Univ Kasdi Marbah ,Ourgla). (2011).
- [68]Ouis , N. Etude chimique et biologique des huile essentielle de coriandre de fénoule et de persille.(Docteur en chimie organique. Univ,d'Oran 1). (2015).
- [69]El haib, A .Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. (Diplôme de doctorat, Univ Toulouse). (2011).
- [70]Legrand ,G. Manuel de préparateur en Pharmacie. Masson, Paris. Kim N.S.& Lee D.S. 2002. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatographymass spectrometry. Journal of Chromatography . vol 98,p: 31-47. (1993).
- [71]Dapkevicius, A. Venskutonis, R. Van Beek T.A. & Linssen J.P.H. Antioxidant activity of extracts obtained by different isolation procedures from some aromatic herbs grown in Lithuania. Journal of Science Food and Agriculture. Vol 77(1),p 140-146. (1998).
- [72]Kim N.S. Lee D.S. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatographymass spectrometry. Journal of Chromatography . 98,p: 31-47. (2002).
- [73]Bruneton J. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris. (1999) .
- [74] Aghel, N.Yamini ,Y. Hadjia khoondi, A. Pourmortasavi ,M,S. Supercriticalcarbon dioxide extraction of Mentha pulegium L. essential oil. Talanta,p. ,407-411. (2004).
- [75]Virendra ,P.S.Drawker,R . extraction of essentiel oil and its applications .department of chemical engineering ,national istitute of Technology,Roukela . (2006).
- [76]Benayad ,N. Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales marocaines. Extraction de métabolites secondaires des champignons endophytiques isolés de plantes marocaines et activité anticancéreuse. Thèse de doctorat , université mohammed v – agdale,Rabate. (2013).
- [77]Wang ,L. Waller, C. L.Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants.Trends Food Sci. Tech. 17 p: 300 – 312. (2006).

[78] Labiod, R. Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calamintha nepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydant et activité fongicide. Thèse de Doctorat, Univ Badji Mokhtar-Annaba. (2016).

[79] Lucchesi, M.E. Chemat, F. Smadja, J. An original solvent free microwave extraction of essential oils from spices», *Flavour. Fragr. J.* vol 19, p: 134-138. (2004b).

[80] Lucchesi, M.E. Chemat, F. Smadja, J. Solvent free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation. *J. Chromatogr. A.* 1043: 323-327. (2004a).

[81] H'RECHARD. J. L. MULTON, les aromes alimentaires Tec et doc-Lavoisier, 1992.

[82] Lagreb. H, extraction, caractérisation des huiles essentielles du *SACCOCALYXSATUREIODES* et *thumus FONTANESII*, mémoire d'ingénieur d'état.

[83] Mohamed, N., boukhatem, mohand, S.H, Fairoua, S. et Yahia, H ; « Extraction, composition et propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle du *Géranium Rosat* (*Pelargonium graveolens* L.) cultivé dans la plaine de Mitidja (Algérie) »; université de Saad Dahleb de Blida ; Algérie; 2010.

[84] Bentchicou. A ; « Extraction, caractérisation et analyse de l'huile essentielle de thym d'Algérie par chromatographie en phase gazeuse (CPG) » ; thèse d'ingénieur ; université de Médéa ; 1999.

[85] Hameurlaine.S ; « Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *pituranthos scoparius* et *rhantherium adpressum* de la région de Ghardaia » ; mémoire de magister ; université de Kasdi Merbah-Ouargla ; 2009.

[86] El abed. D et Kambouche. N ; « Les huiles essentielles » ; Edition Dar El Gharb ; Oran ; 2003.

[87] Melet.I et Benchabane.N ; « Contribution à l'extraction et l'étude de l'huile essentielle d'eucalyptus » ; thèse d'ingénieur d'état ; université de Médéa ; 1997.

[88] Julien Paolini. Caracterisations Des Huiles Essentielles Par CPG/IR, CPG/SM-(IE Et IC) Et RMN Du Carbone-13 De Cistus Slibidus Et De Deux Asteraceae Endemiques De Corse : Eupatorium Cannabinum Subsp. Corsicum Et Dorocicum Corsicum- Docteur De l'Universite De Corse-2005.

[89] Anton R Lobskin A- Plantes Aromatiques. Epices, Aromates, Condiments Et Huiles Essentielles ; Tec Et Doc, Paris 522p 2005

[90] Messaoud, C., Boussaid, M. Myrtus communis berry color morphs: A comparative analysis of essential oils, fatty acids, phenolic compounds, and antioxidant activities. Chemistry and Biodiversity, 8, 300–310. DOI: 10.1002/cbdv.201000088. 2011.

[91] [Http://gfev.univ-tln.fr/Spectro/09Spectro.html](http://gfev.univ-tln.fr/Spectro/09Spectro.html).

[92] Favier A. Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique 108-250. (2003).

[93] Sanchez-Moreno C. Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. Food Science and Technology International 8: 121-137. (2002).

[94] Burits M., & Bucar F. Antioxidant Activity Of Nigella Sativa Essential Oils .Phytotherapy Research, 14, 323-328. (2000).

[95] Canda F., Unlu M.T.B., Daferera, Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., & Akpulat A. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Essential Oil and Methanol Extracts Of Achillea Millefolium Subsp. Millefolium Afan. (Asteraceae).Journal Of Ethnopharmacology 87,251-220. (2003).

[96] Tepe B., Daferera,D.,Sokmen A.,Sokmen, M.,&Polissiou,M. Antimicrobial And Antioxidant Activities Of The Essential Oiel And Various Extracts OfSalvia Tomentosa Miller (Lamiaceae).Food Chemistry ,9(3), 333-340. (2005).

[97] Gulçin I, Beydemir S., Sat I. G., Kufrevioglu., O. I., 2005c. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment Hung., 34: 193-202.

- [98] Amarowicz R, Pegg RB, Rahimi-Moghaddam P, Barl B, Weil JA. Freeradical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chem.*, 84: 551-562. 2004.
- [100] Ormeno.E et Fernandez.C et Mévy.J; « Plant coexistence alters terpene emission and content of mediterranean species-Phytochemistry »; 2007 ; Vol. 68 ; pp 840-852
- [101] Ettatyebi K., El Yamani J. , Et Rossi-Hassani B.D. Synergistic Effects Of Nisin And Thymol on Antimicrobial Activities In *Listeria Monocytogenes* And *Bacillus Subtilis*. *Fems Microbiology Letters*, pp: 191-195. (2000).
- [102] Bansod, S., and Rai, M. Antifungal activity of essential oils from Indian medicinal plants against human pathogenic *Aspergillus fumigatus* and *A. niger*. *World J. Med. Sci.*, 3 (2): 81-88. (2008).
- [103] Choi Y.M., Noh D.O., Cho S.Y., Suh H.J., Kim K.M., and Kim J.M. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT*. 39:756-761. (2006).
- [104] Bekhechi, C., F. Atik-Bekkara et D. E. Abdelouahid. Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie* 6 : 153-159. (2008).
- [105] Paun.G et Zrira.S ; « Chemical composition , antioxidant and antibacterial activity of essential oils from Moroccan aromatic herbs » ; *romaine de chimie* ; september 2013.
- [106] Khoukhi. N et Benadji.H ; « L'extraction et la caractérisation de l'huile essentielle de THYM (*Thymus vulgaris*) de Miliana et l'étude de l'activité antibactérienne »; thèse de master ; université de Khemis Miliana ; 2013.
- [107] Kouache . Etude de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* L. Recoltée dans deux régions Mekhatria et Bathia . P.F.E,U.KM,2018.
- [108] AFNOR .Association française de normalisation (2000).
- [109] F. Bouzelfa, « contribution à l'étude de l'extraction des huiles essentielles de deux espèces de menthes par entraînement à la vapeur d'eau ».P.F.E,U.Blida, 2000.

[110] Makhloufi .A ; « Etude des activités antimicrobienne et antioxydants de deux plantes médicinales poussant a l'état spontané dans la région de Bechar (*matricaria pubescens* (desf.) thèse de doctorat ; université d'Aboubaker belkaid.

[111] Berthias M., une introduction aux huiles essentielle de passiflore (franceà), 2014, p:121.

[112] Talbi et al, Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraction méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (2005).

[113] Mekhaneg. Extraction, caractérisation, activité antibactérienne et antioxydante des huiles essentielles des graines de fenouil (*Foeniculumvulgare*).P.F.E,U.KM,2018.

[114] Damien. Population-based HIV-1 incidence in France, 2003–08: a modelling analysis, 2003.

[115] Ghouлами. Phytochemical study of *Mentha longifolia* of Morocco, 2001.

Liste des tableaux

Tableau. I.1.Classification botanique de la *Mentha rotundifolia* .

Tableau. II.1.Avantage et inconvénient des différents procédés d'extraction

Tableau. III.1.Date et lieu de récolte de la plante Menthe rotundifolia.

Tableau .III.2.Les produits chimiques et les appareillages utilisés dans la présente étude.

Tableau. III.3.Conditions Opératoires de l'analyse par CG/SM

Tableau. III.4.La règle mesurant le diamètre de la zone d'inhibition.

Tableau. IV.1.Variation du rendement en HE extraite par hydro distillation commun durant les mois de Mars-Avril – Mai 2019.

Tableau. IV.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle Menthe rotundifolia.

Tableau. IV.3.Caractéristiques physico – chimique des huiles essentielles de Menthe

Tableau. IV.4. Les composés majoritaires de l'huile Menthe rotundifolia.

Tableau. IV.5.Fréquences de vibration des liaisons.

Tableau. IV.6.Variation du pourcentage l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE des Menthe rotundifolia.

Tableau. IV.7.Diamètre d'inhibition des souches bactériennes de l'HE des menthe rotundifolia .

Liste des figures

Figure. I. 1. Aire de répartitions de la menthe dans le monde .

Figure. I.2.La plante Menthe rotundifolia récoltée au mois mars 2019, dans la région de Bomedfaa, Willaya de Ain Defla.

Figure. II.1.Appareillage utilise pour l'hydro distillation de l'huile (clivenger).

Figure. II.2.processus de la décantation après hydro-distillation.

Figure. II. 3.Appareillage utilise pour l'extraction par l'entraînement à la vapeur.

Figure. II .4 .l'extraction par hydro diffusion.

Figure. II.5.les différent type d'extraction par solvant volatine.

Figure. II.6.Procédé d'extraction au CO₂ supercritique.

Figure. II.7.Procède d'hydro distillation sous micro-ondes.

Figure. III.1.Situation géographique de la région de Boumedfaà (Google Earth) .

Figure. III.1.Montage de l'hydrodistillation (clévenger).

Figure. III.2.Schéma de couplage CPG/SM..

Figure. III.3.Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

Figure. IV.1.Représentation graphique de rendement en HE en fonction du les mois de Mars- Avril- Mai 2019.

Figure. IV.2.Représentation graphique de taux d'humidité de la plante Menthe rotundifolia.

Figure. IV.3.Graphe représente la chromatographique CPG/MS de HE.

Figure. IV.4.Chromatogramme d'analyse de l'HE Menthe rotundifolia par SM.

Figure. IV.5.Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration d'HE.

Liste des symboles et abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline)-6-sulfonique .

AFNOR : Association française de normalisation .

C : Concentration.

°C : Degré Celsius .

CG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplé par la spectrométrie de masse .

CMI : Concentration minimale inhibitrice .

CPG : Chromatographie en phase gazeuse .

d : densité .

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

DPPH : 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle .

eV : Electron volte.

g : Gramme .

H (%) : Taux d'humidité.

HCl : Acide chlorhydrique .

HD : Hydrodistillation .

HE : Huile essentielle.

I_A : Indice d'acide .

IC₅₀ : Concentration inhibitrice 50 .

I_E : Indice d'ester .

I_R : L'indice de réfraction.

IR : Spectroscopie infrarouge

I_s : L'indice de saponification.

KOH : Hydroxyde de potassium.

mg : Milligramme .

M_{HE} : Masse en huile essentielle .

mm : Millimètre.

min : Minute.

ml : Millilitre.

MS : Matière sèche.

Mf : Matière fraîche .

M_{HE} : la masse d'huile essentielle .

NaCl : chlorure de sodium

pH : Potentiel d'Hydrogène .

R(%) : Rendement (%).

R_{HE} : rendement d'extraction d'huile essentielle. SOD : uperoxyde dismutase.

T : Température .

tr : Temps de rétention .

S1-S4 :Dilutions d'EH.

SM : Spectrométrie de masse.

V : Volume .

Vit C : vitamine C .

μg : Microgramme .

μl : Microlitre .

UV : Ultraviolet.

% : Pourcentage .

