**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE DE MEDEA**

**FACULTE DES SCIENCES**



# Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Chimie

**Spécialité :** Chimie Macromoléculaire

**Par :**

BENYAHIA SIHAM
MEZIANI SARA

**Thème :**

# Etude comparative des huiles essentielles de fleurs et de feuilles de *Mentha pelugium L*

Soutenue publiquement le : 10/10/2018. Devant le jury composé de :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Dr YAHOM MADIHA MALHA | Grade : M.C.A | Université de Médéa | Président |
| CHAOUATI KARIMA | Grade : M.A.B | Université de Médéa | Examinateur |
| BOUAZZA FATMA | Grade : M.A.B | Université de Médéa | Encadreur |

Année universitaire 2017/2018

**الملخص:**

نهدف من خلال هذا العمل إلى مقارنة الزيوت الأساسية لأزهار وأوراق النبات العطري و الطبي *Mentha pulegium L* التي تنتمي إلى العائلة الشفوية. تم قطف هذه النبتة من منطقة تابلاط ولاية المدية، لاستخلاص الزيوت الأساسية استخدمنا التقطير المائي باستعمال جهاز Clevenger . قمنا بالدراسة الحركية وحددنا من خلالها الزمن اللازم لاستخلاص زيت الأزهار الذي كان 30 دقيقة وتحصلنا على مردود 4.05 % وكذلك الزمن اللازم لاستخلاص زيت الأوراق الذي كان 60 دقيقة وتحصلنا على مردود 1.71%. تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت المستخلصة بواسطة طريقة إرجاع DPPH، قيمة $IC_{50}$ لزيت الأزهار والأوراق هو14,94 mg/ml و 4,1 mg/ml على التوالي .والنشاط مضاد الالتهاب، النسبة المئوية للزيادة من الارتفاع نسبة الانتفاخ للساق الساق اليسرى على الساق اليمنى الشاهد هي 23,14 % ، فيما يتعلق بشحنة المرجع زيادة النسبة المئوية للانتفاخ هي 21,79 % ، وأخيرا نسبة الانتفاخ من التجارب حوالي (الأزهار 37,25 % ، الأوراق33.27% ).

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت الأساسية، الأزهار، الأوراق، التقطير المائي،*Mentha pulegium L* ، النشاط مضاد الأكسدة، والنشاط مضاد للالتهاب

**Résumé :**

Dans ce travail nous avons comparé les huiles essentiales des fleurs et des feuilles de la plante médicinale et aromatique *Mentha pulegium L*. Cette plante appartenant à la famille des lamiacées est cultivées dans la région de Tablat de la wilaya de Médea. Pour extraire les huiles essentielles, nous avons utilisé l'hydrodistillation de l'eau en utilisant l'appareil de Clevenger. Nous avons fait l'étude cinétique et on déterminé le temps nécessaire pour extraire l'huile de fleurs qui était de 30 minutes avec rendement moyen est de 4.05 %, ainsi que le temps nécessaire pour extraire l'huile de feuilles qui était de 60 minutes et rendement moyen est de 1,71 %.L'activité antioxydante de l'huile extraite a été évaluée par la méthode de DPPH, la valeur de $IC_{50}$ pour l'huile de fleurs et l'huile de feuilles étant respectivement de 14,94 mg / ml et 4,1 mg / ml.L'activité anti- inflammatoire, le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est % 21,79, concernant le lot de référence,

Enfin, pourcentage d'augmentation de l'œdème le Pour lot d'huiles essentiales (1 %: fleurs 37,25 %, feuilles 33,27 %).

**Mots Clés:** huiles essentiales, Fleurs, Feuilles, Hydrodistillation, Mentha pulegium L, Activité antioxydante, Activité anti- inflammatoir

**Abstract:**

In this work we have compared the essential oils of the flowers and leaves of the medicinal and aromatic plant Mentha pulegium L. This plant belonging to the lamiaceae family, is cultivated in the Tablat region of the Medea wilaya. To extract essential oils, we used the hydrodistillation of water using the Clevenger apparatus. We did the kinetic study and determined the time needed to extract the 30-minute flower oil and the average yield was 4.05 %, as well as the time needed to extract the leaf oil that was 60 minutes and average yield is 1.71%. The antioxidant activity of the extracted oil was evaluated by the DPPH method, the $IC_{50}$ value for the flower oil and the leaf oil being respectively 14.94 mg / ml and 4.1 mg / ml. The anti inflammatory activity, the percentage of increase of the edema of the left paws compared to the right paws of the control is% 21,79, concerning the reference batch, Lastly, percentage increase of edema for batch of essential oils ( 1%: flowers 37.25 %, leaves 33.27 %).

**Key Words:** Essential oils, Flowers, Leaves, Hydrodistillation, Mentha pulegium L, Antioxidant activity, Anti-inflammatory activity**.**

# *Remerciements*

*Tout d'abord nous tiendrons à remercier* ***Dieu*** *le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*En premier lieu nous tenons à adresser nos plus vifs remerciements à notre encadreur Mme BOUAZZA FATMA de nous avoir proposé le sujet de ce mémoire et d'avoir porté une attention constante à notre travail. Aussi pour ces précieux conseils, son aide, son soutien, sa discipline.*

*Nos plus sincères remerciements s'adressent au Dr* YAHOM MADIHA MALHA*, qui a accepté de juger ce travail en tant que Président du Jury de soutenance de ce mémoire.*

*Nos vifs remerciements vont aux membres du jury, Mme CHAOUATI KARIMA d'avoir accepté de consacrer de leur temps pour juger ce travail, de l'intérêt qu'elles ont bien voulu prodiguer à nos activités de recherche, en acceptant d'être examinatrices en participant au Jury de soutenance de ce mémoire.*

*Nous sommes très reconnaissants envers les ingénieurs de laboratoire de lycée de la faculté de sciences de l'Université YAHIA Fares –Médéa.*

*Ainsi tout les gens de département physique-chimique et pharmaco-toxico de complexe de SAIDAL de Médéa, qui nos ont accueilles au sein de leur laboratoire, ou ce travail a été effectué, nous ont avoir facilité nos travaux et mettre à notre disposition les moyens nécessaire.*

*Nous remercions Mr BENYAHIA MOHAMED pour leur aide et leur soutien*

*Nous remercions enfin toutes les personnes qui ont participé de prés ou de loin à la réalisation de ce travail*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma chère* ***maman*** *qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce Niveau. Ses sacrifices et privations ne l'ont pas empêché d'accomplir son devoir de Mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*

*A mon cher* ***papa*** *qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa Chaleur paternelle et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

*Mes frères* ***Abd Elhadi*** *et* ***Abd Elnoor****.*

*Et mes chères sœurs* ***Hanane, Hadjira et Chaima.***

*Ma petite tante* ***Amina***

*A toutes les familles* ***Benyahia***

*A tous mes amis*

*A tous mes collègues de la promotion chimie macromoléculaire je dédie ce travail.*

*À tous mes enseignants tout au long de mes études*

***SIHAM***

# *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail...*

*A ma chère parents qui dieu me les garde. Pour vos mains*

*qui ont tant travaillé*

*pour votre cœur qui m'a tant réchauffé*

*pour vos yeux qui furent parfois mouillés*

*pour vous qui m'avez tant aimé :* ***Ahmed et Djamila***

*A mon frères* ***Rabeh*** *et à mes sœur :* ***Zori, Hafidha*** *et* ***Assia***

*Merci de m'avoir Encouragé*

*A tous ceux qui m'ont tant encouragé et aidé avec leur présence*

*Et leur sourire*

*A toutes ma famille et mes très chères amies surtout ;* ***Fati,***

***Salma, Samia, Saliha, Siham***

*Surtout à ma chère amie intime et ma sœur* ***Sihem***

*A tous ma promotion de chimie macromoléculaire*

*À tous que ma mémoire porte et mon mémoire ne peu supporter*

*Sara ...*

# *Liste des abréviations*

**AA :** Activité antioxydant

**Abs :** Absorbance

**AFNOR :** Association Française de Normalisation

**AG :** Acide Gallique

**$CO_2$ :** Dioxyde de carbone

**CPG:** Chromatographie en Phase Gazeuse

**DIC :** Détente Instantanée +Contrôlée

**DPPH :** 1,1 Diphényl 2 Pycril Hydrazil

**HD :** Hydrodistillation

**HE :** Huile Essentielle

**IC50 :** Concentraction d'Inhibition médiane

**OMS** : Organisation mondiale de santé

**PAM :** Plantes Aromatique et Médicinales

**PPAM :** Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales

**R :** Rendement

**RMN :** Résonance Magnétique Nucléaire

**SM :** Spectromètre de Masse

# *Liste des figures*

**Figure I.1** : Morphologie de la Mentha pulegium L……...…04

**Figure I.2** : Feuilles et fleurs de Mentha pulegium L…….05

**Figure I.3:** Feuilles de Mentha pulegium L…….06

**Figure I.4:** Fleur de Mentha pulegium L…….....07

**Figure II.1** : Structure chimique de l'isoprène……14

**Figure II.2** : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles……18

**Figure III.1:** Dispositif de hydrodistillation par Clevenger……22

**Figure III.2**: Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion…….……23

**Figure III.3** : Montage d'extraction assistée par micro-onde…….....24

**Figure III.4**: Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traitement…….....…….....25

**Figure III.5**: l'extraction par solvants volatils……....27

**Figure III.6**: Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore……..28

**Figure III.7**: schéma de principe d'extraction au CO2 supercritique……..29

**Figure IV.1 :** schéma de la méthodologique suivi……..31

**Figure IV.2:** photo de la plantes étudies de Mentha puleguim L……32

**Figure IV.3**: le montage élabore pour hydrodistillation du type Clevenger……35

**Figure IV.4** : Réfractomètre……...……..…36

**Figure IV.5**: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH……..…38

**Figure IV.6:** les six lots souris.....…...41

**Figure IV.7**: photo de gavage des souris……..…42

**Figure IV.8**: l'injection de la carragénine……...……43

**Figure IV.9**: sacrifier des souris et couper les pattes……...…43

**Figure V.1.** Évolution de rendement en fonction de temps d'extraction par HD type clevenger d'HE de fleur.....45

**Figure V.2 :** Évolution de rendement en fonction de temps d'extraction par HD type clevenger d'HE de feuille.....46

**Figure V.3.** Rendement en huile essentielle de fleur et feuille de *Mentha pulegium L*.....47

**Figure V.4**. Variation de l'absorbance des échantillons de DPPH en fonction de la concentration en HE de fleur.....50

**Figure V.5 :** Variation de l'absorbance des échantillons de DPPH en fonction de la concentration en HE de feuille.....50

**Figure V.6:** Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations en HE de fleur.....51

**Figure V.7:** Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations en HE de feuille.....51

**Figure V.8** : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations d'acide gallique.....52

**Figure V.9:** Evolution de poids moyennes des pattes droites et pattes gauches des souris des six lots.....54

**Figure V.10:** le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des six lots.....55

**Figure V.11:** le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et les six lots d'essai par rapport ou témoin.....56

# *Liste des tableaux*

**Tableau IV.1 :** les matériel utilisé et ses condition opératoires.....33

**Tableau V.2** : Cinétique d'extraction par HD type clevenger d'HE de fleur.....45

**Tableau V.3:** Cinétique d'extraction par HD type clevenger d'HE de feuille.....46

**Tableau V.1**: Rendement d'extraction des deux huiles essentielles.....47

**Tableau V.4** : Caractéristiques physiques et chimique des huiles essentielles feuille et Fleur de *Mentha pulegium L*.....48

**Tableau V.5**. Absorbances des différents échantillons testés sur la fleur.....49

**Tableau V.6**. Absorbances des différents échantillons testés sur la feuille.....49

**Tableau V.7** : Les valeurs des IC50 des différents extraits.....52

**Tableau V.8** : Récapitulation des résultats de l'administration d'HE de la plante sur les souris.....53

# *Sommaire*

Résumé

Remerciement

Dédicaces

Introduction générale……01

**Partie bibliographique**

**Chapitre I : présentation de la plante**

I-1Introduction……03

I-2- Définition……..…03

I-3-Les différents noms de la plante ……04

I-4-Description botanique……..…05

I-4-1-Classification botanique……..05

I-4-2-Description botanique…….06

I-4-2-1-les tiges……06

I-4-2-2-Les feuilles……...06

I-4-2-3-Les fleurs……..…...06

I-5-Aires de répartition……07

I-6-Propriétés thérapeutique…….08

I-7-Utilisation traditionnelles……...08

**Chapitre II : les huiles essentielles**

II-1-Historique……..……09

II-2-Définition…….11

II-3-Répartition, localisation des huiles essentielles……11

II-3-1- Répartition géographique de la plante ……....11

II-3-2- localisation des huiles essentielles .....12

II-4-Variabilité des huiles essentielles.....12

II-5-Propriétés physique et chimique des huiles essentielles.....13

II-6-Composition chimique.....14

II-6-1-Les composés terpéniques.....14

II-6-1-1 Les monoterpènes.....15

II-6-1-2-Les sesquiterpènes.....16

II-6-2- Les phénylpropanoïdes.....16

II-6-3-Composés d'origines diverses.....17

II-7-Toxicité des huiles essentielles.....19

II-8-Conservation des huiles essentielles.....19

II-9-Domaine d'application des huiles essentielles.....20

II-9-1-L'utilisation dans l'industrie agroalimentaire.....20

II-9-2- L'utilisation dans La médecine et l'industrie pharmaceutique.....20

II-9-3 -L'utilisation dans parfumerie et cosmétique.....21

II-9-4- L'utilisation dans diverses industries.....21

II-9-5- L'utilisation dans thérapeutique.....21

II-9-6-L'utilisation en entretien.....21

## Chapitre III : les procèdes d'extraction

III-1-Hydrodistilation.....22

III-2-Entraînement à la vapeur d'eau.....23

III-3-L'hydrodiffusion.....23

III-4-Extraction assisté par micro- ondes..... 23

III-5-Extraction par détente instantanée contrôlée (DIC).....24

III-6-Extraction par solvants volatils.....26

III-7-Expression à froid.....27

III-8-Extraction par ultrasons.....27

III-9-Extraction par $CO_2$ à l'état supercritique.....29

**Partie expérimentale**

## Chapitre IV : matériel et méthodes

IV-1-Introduction.....31

IV-2-méthodologie.....31

IV-3-Matériels.....32

IV-3-1-Matériel non biologiques.....32

IV-3-2-Matériel biologique..... 32

IV-3-2-1-Matières végétales.....32

IV-3-2-2-Matériel animal.....33

IV-4-Extraction des huiles essentielles.....34

IV-4-1-Rendement en huile essentielle.....35

IV-4- Détermination des mesures des constantes physico- chimiques.....36

IV-4-1-L'indice de réfraction.....36

IV-4-2-Densité relative.....37

IV-5-Études des activités biologiques .....38

IV-6-1- Etude de l'activité antioxidante.....38
IV-5-2- Etude de l'activité anti-inflammatoire.....40

**Chapitre V: Résultats et discussion**

V-1-Introduction .....45

V-2-Cinétique d'extraction.....45

V-3-Rendement en huile essentielles.....47

V-4-Caractérisation physique et chimique des huiles essentielles.....48

V-5-Évaluation de l'activité antioxydante.....49

V-6-Évaluation de l'activité anti inflammatoire.....53

Conclusion générale…….....57

Références bibliographique
Annexe.

# *Introduction générale*

# *Introduction générale*

L'histoire des Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales (PPAM) est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples, montre que les plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'homme utilise les plantes depuis des milliers d'années, pour traiter divers maux. Le monde végétal est à l'origine d'un grand nombre de médicaments **[1].**

Actuellement, plusieurs questions sont soulevées concernant la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire. En effet, la peroxydation des lipides au cours des processus de fabrication et de stockage des aliments sous l'action des radicaux libres conduit à la perte de la qualité et de la sécurité des aliments. Les antioxydants de synthèse, généralement utilisés en industrie alimentaire pour retarder l'oxydation des lipides, sont suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé du consommateur **[2] ; [3]**. De plus, l'usage excessif d'agents antibactériens et antifongiques chimiques dans la médication humaine ainsi que dans l'élevage animal et la conservation des aliments conduit au développement de microorganismes résistants à la plupart des antibiotiques **[4]**. Suite à cette préoccupation, il semble donc important de trouver une alternative. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre ces phénomènes de résistance bactérienne et d'oxydation des aliments.

D'après **[5]** les PAM occupent une place importante en médecine alternative, dans le cosmétique et la composition des parfums, ainsi que dans les préparations culinaires.

*Mentha pulegium L*. est une plante odorante qui appartient à la famille des Lamiacées, est très répandue dans le nord de l'Europe, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie **[6] ; [7])** En Algérie *Mentha pulegium L* est très abondante et pousse spontanément [**6].**

Son huile essentielle de fait partie des huiles les plus produites dans le monde dont la valeur commerciale s'élève à plus de 400 millions de $US/an. Elle est très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot – Fliou en berbère ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte) **[8].**

Les huiles essentielles représentent une importance économique considérable, vu leur application dans des domaines variés, allant des industries alimentaires, aux industries pharmaceutiques en passant par les industries des parfums et cosmétiques **[9**]. Les huiles essentielles se composent d'un certain nombre de composés de différentes origines biosynthétiques s'étendant des hydrocarbures terpénoïdes aux composés de soufre, et de tels composés sont naturellement présents dans différentes concentrations **[10].**

L'objectif dans un ce travail de recherche est de faire comparé les deux huile essentielles fleurs et feuilles de *Mentha peluguim L* de la région Tablet - Médéa par l'extraction et suite son effet biologique ainsi que son activité antioxydant et inflammatoire.

Notre travail est organisé en cinq chapitres :

- Dans le premier chapitre: généralité de la plante étudiée.
- Dans les deux chapitres ; généralité sur les huile essentielles.
- Dans le trois chapitre ; les méthodes d'extractions et de caractérisation des huiles essentielles existants.
- Dans le quatre chapitre ; différents modes opératoires et matériels utilisés pour nos expériences
- Dans le cinq chapitre ; résultats obtenus et leurs interprétations.

Enfin, ce travail se termine par une conclusion générale qui englobe les résultats obtenus.

*Partie bibliographique*

# *Chapitre I : Présentation de la plante*

## I-1-Introduction :

Les plantes médicinales sont des végétaux dans lesquels les éléments et les forces de la nature engendrent des substances spéciales dont certaines sont capable de contrôler et de favoriser les fonctions de l'organisme humain et dont d'autres peuvent exercer une action thérapeutique sur des états pathologiques de ces fonctions Selon **[11],**

L'Algérie, pays connu par ces ressources naturelles, dispose d'une flore singulièrement riche et variée. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% endémique et appartenant à plusieurs familles botaniques **[12],** Elle possède d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales en raison de la flore spontanée, qui est particulièrement riche en plantes utiles telles que l'ortie, le thym, la menthe… etc.

Ceci est lié principalement à la diversité de son climat et à la nature de ses sols **( [13].**

Plusieurs travaux ont mis en évidence les différentes activités biologiques des plantes aromatiques et médicinales, en particulier leur pouvoir antifongique **[14]; [15];[16],** antibactérien **[17]; [18],** antioxydant **[19]**et insecticide. **[20]; [21] ;[22].**

## I-2- Définition :

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des herbacées vivaces, indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées **[23]**.. Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthe doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de menthe **[24]**.

Autant les menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires et des origines hybrides qui les relient. Parmi toutes les Lamiacées, les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales **[24]**.

La menthe pouliot, *Mentha pulegium*, est l'espèce la plus exploitée pour ses vertus médicinales et aromatique **[25]; [26]**.

Elle est représentée par deux sous espèces: Mentha pulegium ssp. vulgaris et Mentha pulegium ssp. pulegium **[6]**. Cette dernière fera l'objet de notre étude.



**Figure I .1** : Morphologie de la Mentha pulegium L **[27]**

## I-3-Les différents noms de la plante

La Mentha pulegium possède plusieurs de nominalités, Elle est appelée localement « Fliou », également pouliot, pouliot royal, herbe aux puces, chasse puce, herbe de Saint Laurent ou frétillet **[28].**

## I-4-Description botanique :

### I-4-1-Classification botanique :

Cette classification est faite selon **[6] ; [29]**

**Règne** : Plante.

**Embranchement** : Angiospermes.

**Sous embranchement** : Spermathophyte.

**Classe** : Equisetopside.

**Ordre** : Lamiales.

**Famille** : Lamiaceae.

**Genre** : Mentha.

**Espèce** : Mentha pulegium L.



**Figure I.2** : Feuilles et fleurs de Mentha pulegium L **(original )**

## I-4-2-Description botanique :

C'est une plante de 10 à 30 cm de hauteur, à inflorescence formée de nombreux verticillés denses, feuillés et distants **[30].** Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. Le nom de *pulegium* vient de latin *pulex*, la puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces **[31].**

### I-4-2-1- Les tiges :

Les tiges à section carrée, sont plus ou moins dressées, verdâtres ou grisâtres, très ramifiées.

### I-4-2-2-Les feuilles :

Les feuilles, opposées et petites, sont ovales ou oblongues presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole.



**Figure I.3:** Feuilles de Mentha pulegium L **(original)**

### I-4-2-3-Les fleurs :

Les fleurs, qui apparaissent l'été, de mai à fin septembre, sont rose lilas, parfois blanches, et sont groupées à l'aisselle des feuilles en glomérules largement espacés le long de la tige. Chaque inflorescence, en cyme, est axillée par une bractée foliacée.

Elle englobe jusqu'à 30 fleurs. Deux préfeuilles, réduites, naissent à la base de chaque inflorescence. Le calice, persistant et finement velu, est en cloche. Il est faiblement bilabié, strié et à 5 dents subégales (les 2 dents inférieures sont plus étroites). La corolle est gamopétale formée de cinq pétales soudées. Le fruit est constitué de 4 akènes. **[30];[32].**

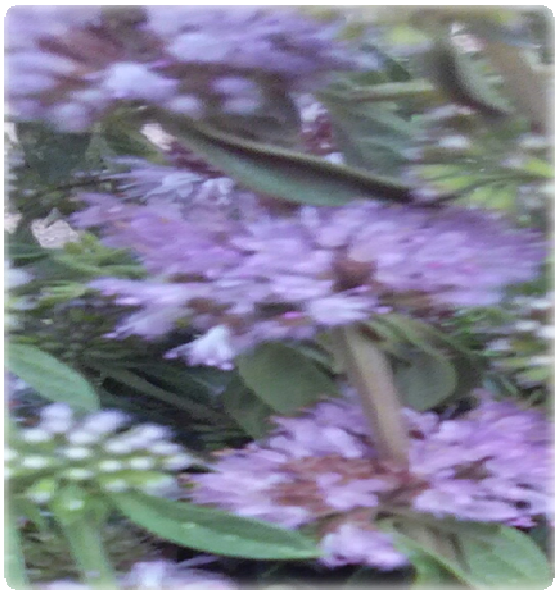


**Figure I.4:** Fleur de Mentha pulegium L **(original)**

La floraison s'étant du mois de juin à août **[33]**

## I-5-Aires de répartition :

*Mentha pulegium L* est très répandue dans le nord de l'Afrique, dans la région méditerranéenne et dans l'Asie **[30];[34]**.

En Algérie, *Mentha pulegium L* est très abondante et pousse spontanément **[30]** Elle se rencontre dans les zones humides et généralement marécageuses, près des routes, et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes **[34]**.

## I-6-Propriétés thérapeutiques :

En Inde la menthe pouliot, est utilisée pour la digestion, pour traiter les maladies du foie et la vésicule biliaire, la goutte, le rhume, ainsi que le traitement des maladies de la peau **[35]**.

Selon **[36]**. Le genre menthe, est utilisé comme remède, pour le traitement des nausées, bronchites, flatulences, anorexie, ulcère du col de l'utérus et les maladies du foie ; à cause de leurs propriétés anti-inflammatoire, carminative, diaphorétique, antispasmodique, analgésique, stimulant, emménagogue et anticatharral.

L'huile essentielle (ou/et) les extraits du genre menthe, ont des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes **[37].**

## I-7-Utilisation traditionnelle :

*Mentha pulegium L* est utilisée pour ces actions carminatives, diaphorétiques, stimulantes et emménagogues, et elle est principalement utilisée contre les désordres provoqués par le froid ou le froid soudain. Elle est également salutaire dans les cas des spasmes, hystérie, flatulence et elle est utilisée pour chauffer l'estomac **[38].**

L'huile essentielle de la menthe pouliot est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à la digestion et à soulager la dyspepsie flatulente et les coliques intestinaux **[39].**

- Inflammations aiguës ou chroniques des muqueuses avec hypersécrétion des glandes de la région enflammée.
- Expectorante, calme la toux, utilisée pour la sphère respiratoire (tropisme sphère rhinopharyngée et les poumons), contre les bronchites, les rhumes et les sinusites (en nettoyant toute la sphère digestive), ainsi que contre les troubles digestifs et l'insuffisance biliaire.
- Elle est également utilisée pour provoquer les règles ou pour soulager les règles douloureuses **[39].**

# *Chapitre II : Les huiles essentielles*

## II-1-Historique :

De tous temps, en tous lieux, notamment dans les pays tropicaux, les plantes aromatiques ont joue des rôles primordiaux.

D'abord utilisées a l'état brut, puis infusées, digérées, sous forme d'onguent, de parfum, d'extraits alcooliques, elles ont toujours eu une place prépondérante dans la culture de nombreux peuples a travers les âges, que ce soit sur le plan religieux, ou médical.

Il y a plus de 7000 ans en Inde, les ≪ eaux aromatiques ≫ étaient déjà largement employées dans le traitement des troubles de la sante. Le continent indien est le berceau de bien des plantes aromatiques, dont le basilic, qui était sacre (*Ocimum sanctum*), et elles occupaient une large place au cours des sacrifices religieux, autant que pour soigner le corps et l'esprit.

A Babylone, on faisait bruler du Cyprès et d'autres plantes aromatiques dont les traductions ne nous permettent pas de percer la nature afin de lutter contre les ≪ esprits malfaisants ≫

A Athènes vers 400 av. JC, un écrit attribue à Hippocrate, Aphorismes, fait mention de fumigation de diverses plantes aromatiques dont le romarin, la sarriette et l'hysope afin de lutter contre la grande peste qui ravagea la ville **[40].**

Les premières traces d'utilisation des HE en tant que telles nous viennent d'Egypte, entre 3000 et 2000 ans avant JC **[41]** En effet, à cette période il semble qu'une forme rudimentaire de distillation soit employée pour extraire la substance des plantes aromatiques. Vers 1700 avant JC, le papyrus Edwin Smith, attribue à Imhotep, indique des recettes se rapprochant de l'aromathérapie moderne**. [42].**

Ce sont les Perses qui sont considères comme les inventeurs de la distillation, technique qui a été perfectionnée par les Arabes, qui l'employaient plutôt a des fins de parfumerie que thérapeutiques.

Les Musulmans reprirent cette technique et l'adaptèrent à des fins médicales. Ibn Sina, dit Avicenne, le ≪troisième maitre ≫, fait un large usage des huiles essentielles au cours des Xème et XIème siècles, et il contribue à répandre cette thérapeutique grâce a l'un de ses plus fameux ouvrages, le Canon de médecine **[43].**

C’est sans doute grâce aux croisades que la distillation a pu être ramenée en Occident, ou pas moins de cent huiles essentielles sont utilisées couramment et de manière ciblée des le début du XVIIème.

L’avènement de la civilisation industrielle entraina un oubli presque total de l’utilisation thérapeutique des huiles essentielles. C’est en France, au XIXème siècle, avec les travaux de Chamberland, puis par la suite de Cadeac et Meunier, que la capacité des huiles essentielles à neutraliser les germes est prouvée.

Mais c’est Rêne-Maurice Gattefosse, en 1928, qui forge le terme ≪ aromathérapie ≫.

L’on raconte cette anecdote bien connue, ou un jour, suite a une explosion accidentelle dans son laboratoire, il eut les mains brulées. Parfumeur, il avait vaguement connaissance des usages ancestraux des huiles essentielles. Devant la mauvaise tournure que prenait la plaie, il eut l’idée de s’enduire régulièrement d’huile essentielle de lavande. Il connut alors un soulagement immédiat et une cicatrisation étonnamment rapide et ≪ propre ≫. Mais l’histoire ne nous dit pas s’il s’agit de lavande officinale, dite vraie, ou bien de lavande aspic, mieux connue que sa cousine pour ses vertus cicatrisantes et antiseptiques cutanées…

Il n’aura de cesse jusqu' à sa mort de prouver l'efficacité des huiles essentielles. L’avènement de l’antibiothérapie, avec la découverte et l'exploitation de la pénicilline dans les années quarante, éclipsera l’aromathérapie pendant des dizaines d’années. C’est concomitamment a l’apparition de résistances des bactéries aux antibiotiques que l’engouement pour les huiles essentielles renait, grâce notamment aux publications du Dr. Valent dans les années soixante. Ce médecin a tire ses enseignements de ses propres expériences en tant que chirurgien militaire au Tonkin de 1950 a 1953 : il usait sur les blesses de mélanges aromatiques de sa confection et obtenait selon lui des résultats supérieurs a ce qu'on pouvait espérer avec les méthodes en cours a cette période. Depuis lors, de très nombreuses études ont été réalisées pour prouver l’intérêt thérapeutique et économique de ces substances, à présent intégrées a l’industrie agro-alimentaire, ainsi qu’a l’arsenal thérapeutique d'un nombre croissant de médecins.

## II-2-Définition :

Les huiles essentielles sont définies comme étant des liquides concentrés, très complexes et hydrophobes. Ce sont des extraits volatils et odorants qu'on obtient par extraction mécanique, distillation à la vapeur d'eau ou distillation à sec de plantes aromatiques (fleur, feuille, bois, racine, écorce ou fruit). Elles se forment dans un grand nombre de plantes comme sous-produits du métabolisme secondaire. Elles ont des propriétés et des modes d'utilisation particuliers et donnent naissance à une branche nouvelle de la phytothérapie : l'aromathérapie [**44**].

L'association Française de Normalisation définit **[45]**, les huiles essentielles comme étant « des produits obtenus à partir de matières naturelles végétales soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des *Citrus*, soit par distillation sèche. L'huile essentielle ainsi obtenue est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques.». A ce jour, 3000 huiles essentielles sont connues, seulement 300 d'entre elles sont commercialisées **[46].**

## II-3-Répartition et localisation des huiles essentielles :

On rencontre les huiles essentielles dans divers familles botaniques elles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante et forment dans le cytoplasme de cellules spécialisée. **[47]**

## III-3-1-Répartition géographique de la plante :

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez les végétaux supérieurs, il y aurait 17500 espèces aromatiques.

Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limite de familles, EX: Myrtaceae (Girofle), Lauraceae (laurier), Rutaceae (citron), Lamiaceae (Menthe), Apiaceae (Coriandre), Zingiberaceae(Gingembre). .etc. **[48]**

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes de la plante, par exemples : dans les sommités fleuries (menthe, lavande) les feuilles (eucalyptus, laurier) les rhizomes (gingembre) les fruits (agrumes, badiane, anis), les racines

(vétiver), les graines (muscades), bien que cela soit moins habituel dans des écorces (cannelier). **[49]**

## III-3-2- Localisation des huiles essentielles :

Elles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante. Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules ou seras semblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles. **[50]**

La synthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologique spécialisés, souvent localisée sur ou à proximité de la surface de la plante qui sont : cellules à huiles essentielles de Lauraceae, les poils sécréteursdes laminaceaes, poches sécrétrices des Myrtaceaes, des Rutaceaes, et les Laminaceaes, et les canaux sécréteurs qui existent dans de nombreuses familles. Il est intéressant de remarques que les organes d'une même espèce peuvent renfermer des huiles essentielles de composition différente selon la localisation dans la plante **[47].**

## II-4-Variabilité de la composition :

La composition chimique et le rendement en huiles essentielles varient suivant diverses conditions telles que l'environnement, le génotype et l'origine géographique. D'autres facteurs interviennent également tels que la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la contamination par des parasites, des virus et des mauvaises herbes et le choix de la méthode d'extraction. C'est ainsi que l'action des huiles essentielles est le résultat de l'effet combiné de leurs composés actifs et inactifs, ces composés inactifs pourraient influencer la disponibilité biologique des composés actifs et plusieurs composants actifs pourraient avoir un effet synergique **[51] ; [52]; [46]; [53];[44]**. Pharmaceutiques : sirop, goutte, gélules pommade ...etc.

## II-5- Propriétés physico-chimiques :

D'une manière générale, les propriétés et caractéristiques d'une huile essentielle sont :

Les différents indices, pouvoir rotatoire, viscosité, densité, solubilité dans l'alcool, point d'ébullition et congélation. Plusieurs autres se sont intéressés aux caractérisés physico -chimique de l'huile essentielle se présentent comme suit :

Elles sont généralement à l'état homogène liquide à température ambiante sauf quelques-unes qui se présentent sous l'état solide (anis, fenouil, menthe de japon....) Elles contiennent des substances volatiles dans le végétal ce qui les déférences des huiles « fixes ».Toutes les huiles volatiles sont acres, très inflammables, et très odorantes. Elles ne sont très rarement colorées, (sauf quelques exceptions) mais prennent peu à peu une coloration bleu clair (camomille, patchouli) est due à la présence de chamazuléne (carbures sesquiterpènique qui est l'azuléne).

Du fait de leur nature huileuse, ces produits sont très peu soluble dans l'eau, mais soluble dans les solvants organiques apolaire usuels, les huiles grasses, et dans les alcools a titre élève et éther.

La plupart des huiles sont plus légères, leur densité est en général inférieure à celle d'eau.

Quantitativement, les teneurs en huiles essentielles sont faibles parfois très faibles elle est de ordre de 0, 1% à 1%, ceci explique le coût élevé de l'HE, a 1 exception de quelque uns comme par exemples le clou de girofle qui renferme plus de 15% d'essence.

L'indice de réfraction et leur pouvoir rotatoire sont généralement élèves, et la plupart devient à la lumière polarise, et sont plus souvent optiquement actives car elles sont contenus des molécules asymétrique.

Elles sont très sensibles à l'oxydation et ont également tendance à se polymériser pour former des produits résineux. Les huiles essentielles sont extrêmement volatiles et perdent rapidement leur propriétés, lorsqu'elles sont exposées au soleil, ou lumière, ou à leur chaleur, elles absorbent de grande quantité d'oxygène à l'air en se résinifiant, en même temps leur odeur se modifie, leur point d'ébullition augmente et leur

solubilité diminue. Elles doivent être conservées dans des flacons en verre coloré bien fermés, à labri de l'air, de la lumière pour une meilleure protection. **[54], [48], [55].**

## II-6- Composition chimique :

Du point de vue chimique, les huiles essentielles sont constituées de mélanges extrêmement complexes. Les constituants des huiles essentielles peuvent être répartis en deux classes en fonction de leur voie de biosynthèse : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes **[56].**

Elles peuvent également renfermer divers produits issus du processus de dégradation mettant en jeu des constituants non volatils **[54].**

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). C'est la technique la plus utilisée, car elle permet de réaliser une analyse complète de plus d'une centaine de molécules chimiques que contient l'huile. Le spectromètre de masse (SM), que l'on associe souvent à la chromatographie (CPG-SM), permet lui d'obtenir la composition précise de l'huile essentielle **[57]**. La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles **[58];[59].**

## II-6-1-Les composés terpéniques :

Les terpènes constituent une famille de composés largement répandue dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbone à la formule générale $(C_5H_8)$ n reconnue par Wallach dès 1887 [**60**].

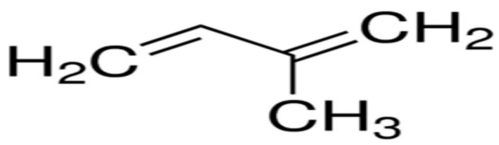



**Figure II.1** : Structure chimique de l'isoprène

Cet isoprène est à la base du concept de la «règle isoprénique» énoncée en 1953 par Ruzicka. Cette règle considère le diphosphate d'isopentényle (IPP), désigné sous le nom d'isoprène actif, comme le véritable précurseur de la molécule terpénique. Les systèmes enzymatiques responsables de cette conversion (IPP en composés terpéniques dans les trois compartiments: cytoplasmes, mitochondries et plastes) sont hydrosolubles ou membranaires. Ces derniers permettent l'élongation de la chaine isoprénique conduisant à tout l'éventail des composés terpéniques à 10, 15, 20 et 30 atomes de carbones [**60].**Le terme « terpénoïde » définit l'ensemble des terpènes oxygénés et non oxygénés, alors que le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène **[61]**.

Ainsi, on distingue selon le nombre de carbone: les monoterpènes ($C_{10}$), les sesquiterpènes ($C_{15}$), et moins fréquemment les diterpènes ($C_{20}$), les triterpènes ($C_{30}$) et les tétraterpènes ($C_{40}$).

Seuls les terpènes dont la masse moléculaire est relativement faible (mono et sesquiterpènes) sont rencontrés dans les huiles essentielles **[54]** et leurs confèrent un caractère volatil et des propriétés olfactives **[62].**

## II-6-1-1 Les monoterpènes:

Les terpènes simples sont formés de deux unités d'isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ **[63]**. On y rencontre des monoterpènes acycliques (myrcène, ocimène), des monoterpènes monocycliques ($\alpha$- et $\gamma$-terpinène, *p*-cymène) et des monoterpènes bicycliques (pinènes, Δ 3 -carène, camphène, sabinène).

la réactivité des cations intermédiaires justifie l'existence de nombreuses molécules caractérisées par différentes fonctions **[64].**

- Alcools : acycliques (géraniol, linalol, citronellol) monocycliques (menthols, $\alpha$- terpinéol, 1-terpinènes-4-ol) ou bicycliques (bornéol, fenchol) ;
- Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géranial, néral, citronellal) ;
- Cétone : acycliques (tagetone), monocycliques (menthone, carvone, pulégone) ou bicycliques (camphre, fenchone, thuyones) ;

- Esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronnellyle), monocycliques (acétate de menthyle, d'$\alpha$-terpinyl) ou bicycliques (acétate d'isobornyle);
- Peroxydes : ascaridole ;
- Ethers : cinéole (on dit aussi eucalyptol);
- Phénols : thymol, carvacrol.
- Les monoterpènes peuvent constituer parfois plus de 90% des huiles essentielles (Citrus) **[64]**.

## II-6-1-2-Les sesquiterpènes :

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demi (sesqui) la molécule de monoterpène **[65].** Ils présentent une grande variété dans leurs structures conduisant à un nombre élevé de possibilités, ce qui a retardé leur élucidation **[63]**. Les sesquiterpènes peuvent être également, comme les monoterpènes, acycliques (farnésol), monocycliques (humulène, $\alpha$-zingibèrène) ou polycycliques (matricine, artéannuine, β, artémisinine). Ils renferment aussi des fonctions chimiques caractéristiques comme alcools (farnésol, carotol, β-santalol, patchoulol), cétones (nootkatone, cislongipinane- 2.7-dione, β-vétivone), aldéhydes (sinensals) ou esters (acétate de cédryle) **[66]; [64]**.

## II-6-2- Les phénylpropanoïdes :

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3), mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente **[67]**.

Les phénylpropanoïdes ou composés phénoliques, sont biosynthétisés à partir des acides aminés aromatiques que sont la phénylalanine et la tyrosine. Ils sont généralement caractérisés par la présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle **[56].**

Considère que ces composés sont très souvent des allyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées (anis, fenouil: anéthole, anisaldehyde, estragole. persil : apiole) mais aussi de celles du girofle (eugénol), de la muscade (safrol, eugénol), de l'estragon (eugénol), du basilic (eugénol), de l'acore (asarone) ou de la cannelle (cinnamaldéhyde, eugénol, safrol).[**54]**

## II-6-3-Composés d'origines diverses :

Compte tenu de leur mode d'extraction, les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînables lors de l'hydrodistillation : carbures, acides et lactones **[68]**. Il s'agit de composés issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares [**54]**.

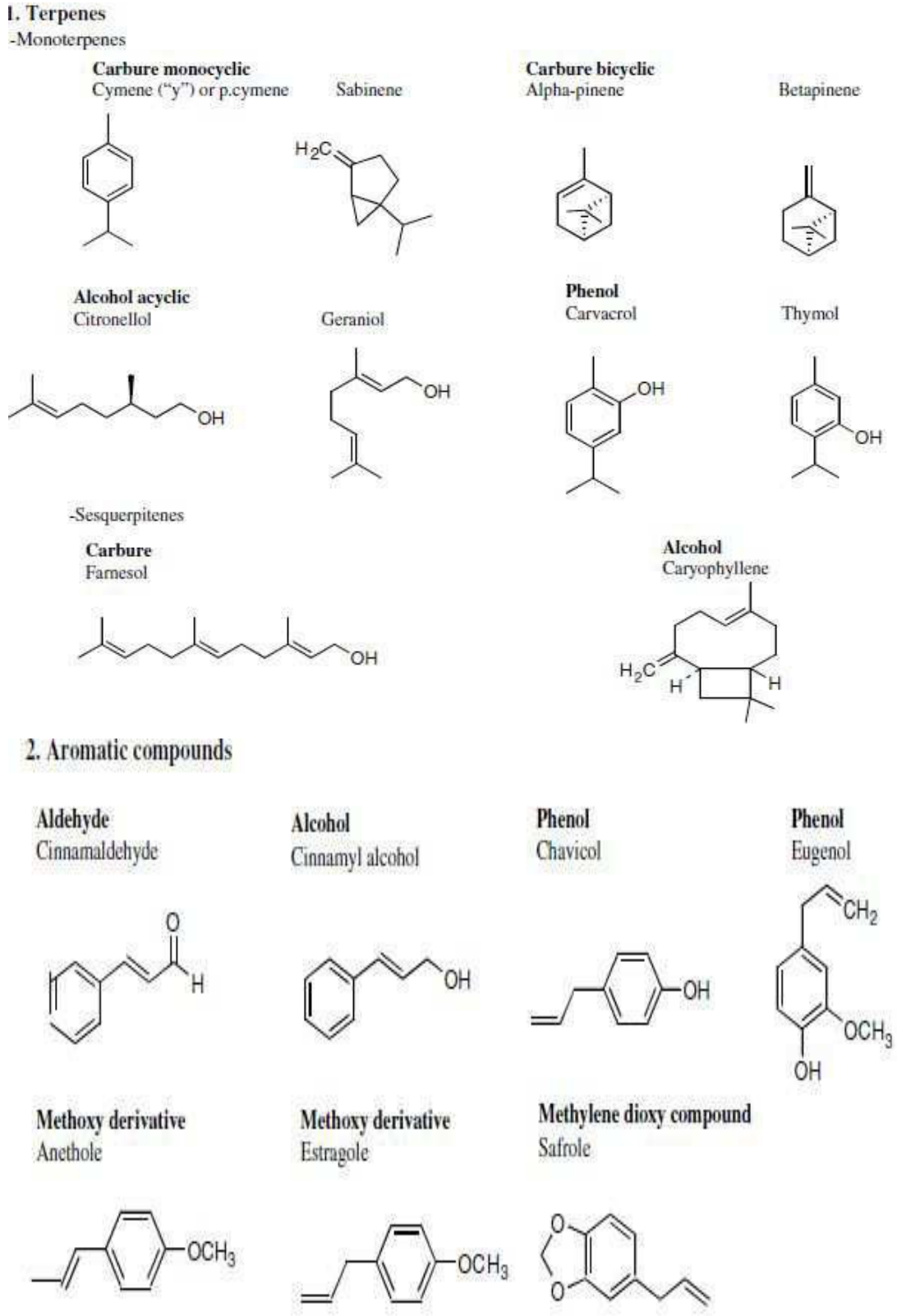



**Figure II. 2** : Structure chimique de quelques composés des huiles essentielles **[69].**

## II-7-Toxicité des huiles essentielles :

Les Huiles essentielles contiennent des milliers de composants : elles sont très efficaces, mais aussi très dangereuses. Certains composants aromatiques peuvent être dangereux et toxique.

La toxicité des huiles essentielles (principalement des cétones mono terpéniques) est connue depuis le siècle dernier.

L'automédication (dangereuse) est favorisée par le fait que bon nombre de ces produits sont distribués en dehors du secteur pharmacies ; au mépris d'une législation qui réserve la distribution de certains d'entre eux aux pharmaciens garantissant ainsi un contrôle rigoureux d'identité et de conformité. Egalement les huiles essentielles de Lamiaceae ; peuvent se révéler dangereuses lorsqu'elles sont ingérées à forte dose.

Les intoxications décrites sont généralement consécutives à un usage inconsidéré (exp.5 ml de l'huile essentielle). La symptomatologie de ce type d'intoxication est marquée par des épisodes de convulsions de type épileptique, parfois accompagnée de cyanose et entrecoupé de phases hypotoniques et hyporéflexique. Elle peut aussi comporter une perte de conscience. L'un des cas les plus récemment publiés révèle que 12 gouttes peuvent suffire pour induire une sensation de malaise rapidement suive d'un épisode de convulsion tonic cloniques généralisées. La lipophile de ces huiles essentielles explique que leur toxicité peut se manifester aussi bien par voie orale que par voie rectale ou par voie transcutanée (exemple, avec des préparations pour bains). Le menthol lui -même n'est pas sans danger la dose létale pour l'homme est estimée à 2g et la simple administration se solutés pour instillation nasale ou d'autre produits à base de menthol à jeunes peut déclencher un spasme létale de la glotte. **[70]**

## II-8- La conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles se conservent plusieurs années, elles ont même tendance à se bonifier avec le temps (à l'exception des huiles essentielles extraites des zestes d'agrumes qui ne conservent pas plus de 2 ans).

Il est recommande de les stocker dans flacons en verre ambre on foncé de manière à les protéger de la lumière, il faut éviter les forts de température et le contact avec l'air,

Il faut bien refermez les flacons après usage car les aromes s'évaporent dans l'atmosphère, tenir les flacons hors de portée des enfants. Les flacons doivent être stockes en position verticale, en position horizontale, il y a un risque que le bouchon soit attaqué par l'huile (les huiles ont une action corrosive sur le plastique). Dans ces conditions, les huiles essentielles se conservent plusieurs années. **[71]**

## II-9- Domaine d'application des huiles essentielles :

Par leurs nombreuses et diverses propriétés, les plants aromatiques et leurs essences trouvent leur emploi dans de multiples domaines tels que : l'alimentation, la pharmacie, la parfumerie; l'aromathérapie….

### II-9-1-L'utilisation dans l'industrie agroalimentaire :

Les huiles essentielles sont utilisées comme condiments, aromates ou épices.
C'est le cas des essences de gingembre, de girofle, de vanille, de basilic, de poivre, de citrus. Les huiles essentielles extraites de citrus, par exemple, trouvent leur utilisation dans la confiserie, les sirops, les biscuiteries. On note leur intégration aussi dans les boissons, les produits laitiers, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries ainsi que la nutrition animale. **[72]**

### II-9-2- L'utilisation dans La médecine et l'industrie pharmaceutique :

Les propriétés pharmaceutique des HE leurs confèrent un pouvoir antiseptique contre les bactéries, champignons et levures, en plus des propriétés bactériostatique, vermicide, antiseptique, insecticides. Les He de thym, girofle, lavande, eucalyptus. le thymol, constituant principal de l'huile essentielle de thym, est 20fois plus antiseptique que le phénol**. [72,73]**

L'huile essentielle de Malaleuka a prouvé cliniquement son action antiseptique, antimicrobienne et antioxydant.

Des propriétés spasmolytique et sédatives : certaines drogues à HE (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux.

Des propriétés irritantes : de nombreuses crèmes, pommades à base d'HE sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires ; certaines HE

ex : oléorésine dans térébenthine augmentent la microcirculation, induisent une sensation de la chaleur et dans certains cas une légère anesthésie locale.

**II-9-3-L'utilisation dans parfumerie et cosmétique :**

Utilise fréquemment les huiles essentielles. La cosmétique est le secteur des produits d'hygiène naturels et synthétique pour consommateur. Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires **[74].** On les retrouve aussi dans les préparations pour bains. Intégrée aux huiles de massage, leur teneur ne doit pas passer 3 à 4%. Le menthol, par exemple, trouver une utilisation variée dans les produits tels que dentifrices mousses, nettoyantes, aliments, cigarettes et des préparations pharmaceutique orales. L'huile de menthe poivrée est la troisième saveur mondiale, derrière les saveurs vanille et citron**. [75],[76]**

**II-9-4- L'utilisation dans diverses industries**

Ce sont surtout des industries chimique que utilisent des isolants (substances pures isolées des HE) comme matières premières pour la synthèse de principe actifs médicamenteux, de vitamines, de substances odorantes, etc**. [77]**

Citons ainsi l'utilisation des isolats linalool, D-limonène dans des shampoings et sprays insecticides pour les chats et les chiens.

**II-9-5- L'utilisation dans thérapeutique :**

Les huiles essentielles, ont depuis longtemps été employées pour leurs effets thérapeutiques, c'est l'aromathérapie qui est l'art de la science d'utilise ces huiles essentielles pour maintenir ou améliorer la santé et la beauté.

Etymologiquement le mot aromathérapie signifie le traitement des «thérapies »par les arômes (essences ou huiles essentielles) « arôma».

Les huiles essentielles sont aujourd'hui mises en lumière par le progrès scientifique : elles sont antiseptiques, antimicrobiennes ; anti-infectieuses. Cicatrisantes de plus certains revitalisent et stimulent l'énergie vitale. Elles sont donc tonique, **[78].**elles sont volatiles ce qui permet de les pour purifier l'atmosphère. **[79].**

**II-9-6-L'utilisation en entretien :**

Les huiles essentielles sont utilisées dans la fabrication des nettoyants ménagers pour sol et murs, anti-moustique, encaustiques divers **[79].**

*Chapitre III : les procèdes d'extractions*

## III-1- Hydrodistillation :

L'hydrodistillation, proprement dite, est la méthode standard la plus sélective pour l'extraction d'une huile essentielle et le contrôle de qualité **[80]**. Le procédé correspond à une distillation hétérogène, et consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau. L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique. La chaleur permet l'éclatement du lieu de sécrétion (poils, poches ou canaux) et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique.

Sachant que la température d'ébullition d'un mélange est atteinte lorsque la somme des tensions de vapeur de chacun des constituants est égale à la pression d'évaporation, elle est donc inférieure à chacun des points d'ébullition des substances pures. Ainsi, le mélange azéotropique

« Eau + Huile essentielle » distille à une température légèrement inférieure à 100°C à pression atmosphérique, alors que les températures d'ébullition des composés aromatiques sont pour la plupart très élevées. A la sortie, le mélange circule dans un serpentin où il se condense. Ensuite, il est recueilli dans un essencier ou un vase florentin. La différence de densité entre les deux phases permet une séparation aisée.

La période de distillation varie considérablement selon la matrice et peut atteindre plusieurs heures. Elle influe également sur le rendement et la composition de l'extrait.

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. En laboratoire, le système équipé d'une cohobe, qui est généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, est appelée le Clevenger **[81] (Figure III.1).**

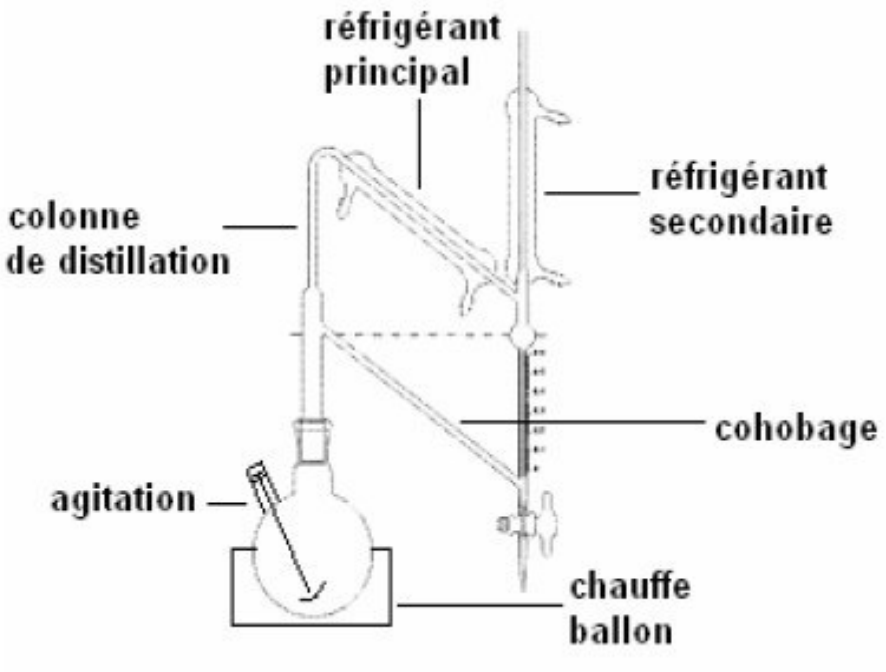



**Figure III.1 :** Dispositif de hydrodistillation par Clevenger

## III-2- Entraînement à la vapeur d'eau :

Les méthodes d'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont basées sur le fait que la plupart des composés volatils contenus dans les végétaux sont entraînables par la vapeur d'eau, du fait de leur point d'ébullition relativement bas et de leur caractère hydrophobe.

Sous l'action de la vapeur d'eau introduite ou formée dans l'extracteur, l'essence se libère du tissu végétal et entraînée par la vapeur d'eau. Le mélange de vapeurs est condensé sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par décantation **[82]**

En fonction de sa densité, elle peut être recueillie à deux niveaux:

- ✓ au niveau supérieur du distillat, si elle est plus légère que l'eau, ce qui est fréquent.
- ✓ au niveau inférieur, si elle est plus dense que l'eau.

Les principales variantes de l'extraction par l'entraînement à la vapeur d'eau sont l'hydrodistillation, la distillation à vapeur saturée et l'hydrodiffusion.

## III-3-L'hydrodiffusion

Elle consiste à pulser de la vapeur d'eau à travers la masse végétale, du haut 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. L'avantage de cette technique est traduit par l'amélioration qualitative et quantitative de l'huile récoltée, l'économie du temps, de vapeur et d'énergie.

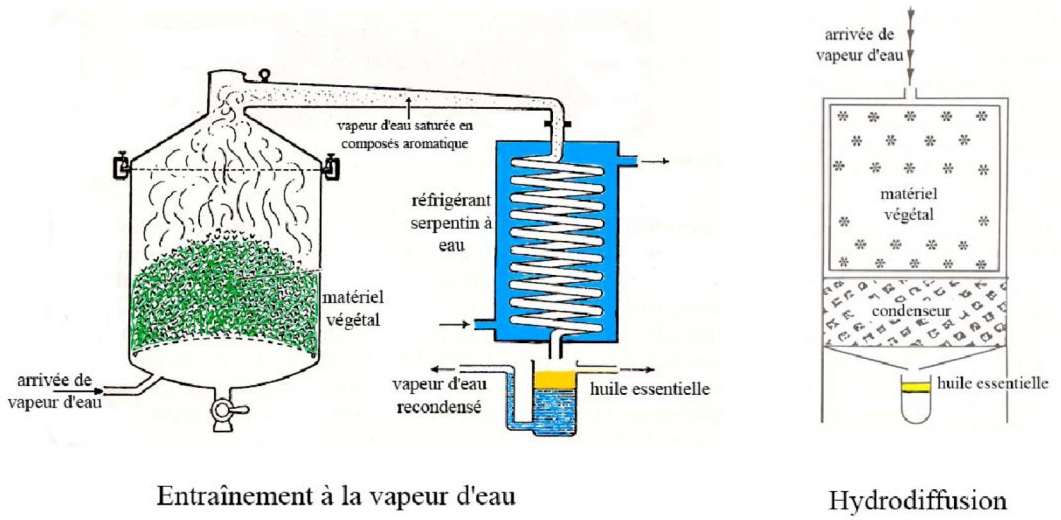



**Figure III. 2**: Entraînement à la vapeur d'eau et hydrodiffusion

.

## III-4-L'extraction assistée par micro-ondes :

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances **[83]**. Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant. On filtre et on récupère ensuite l'extrait.

L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes **[84]**. Ce procédé, très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui, est le plus souvent, de qualité supérieure à celle du produit d'hydrodistillation traditionnelle **[54].**

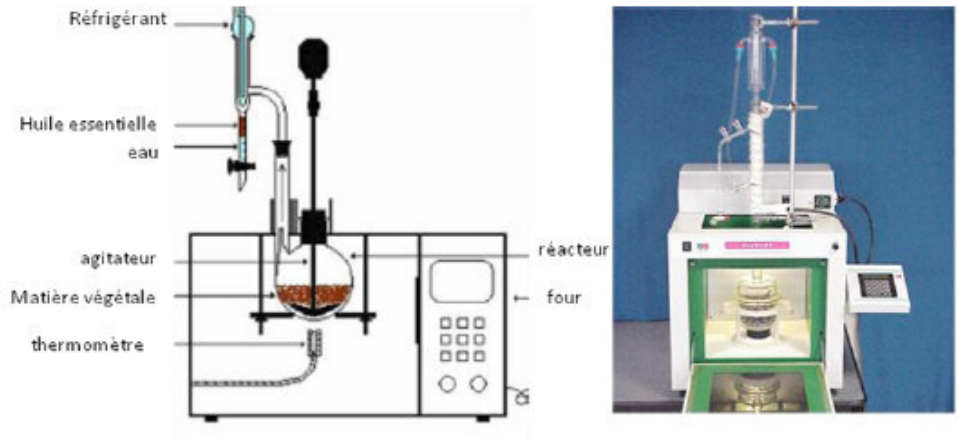



**Figure III. 3**: Montage d'extraction assistée par micro-onde

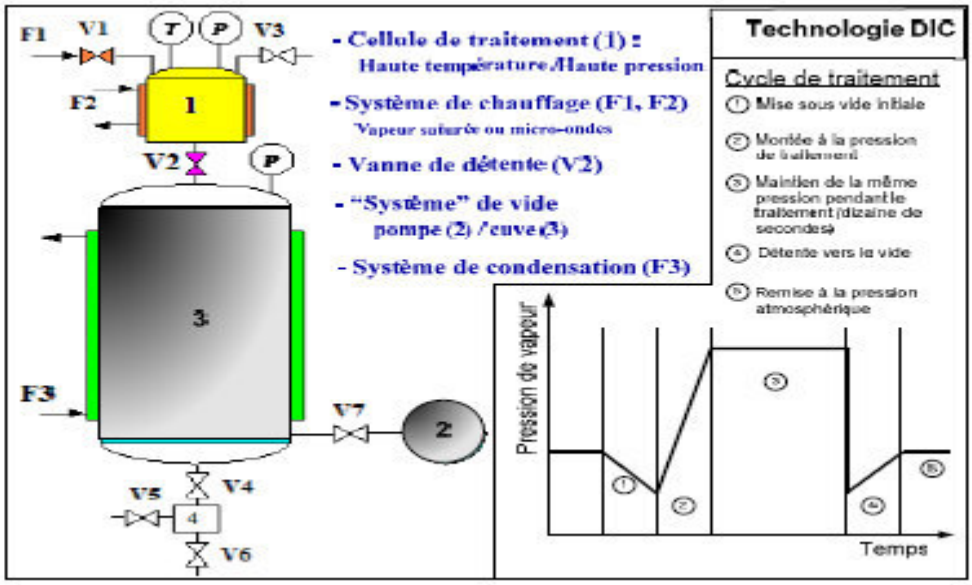
## III-5-Détente Instantanée Contrôlée

Cette méthode d'extraction est née des études théoriques menées par le Professeur **[85**] sur l'expansion par extrusion et suivies de travaux expérimentaux. La Détente Instantanée Contrôlée est fondée sur la thermodynamique de l'instantanéité et des processus d'autovaporisation couplée à l'évolution hydro-thermo-mécanique de nombreux polymères à usages alimentaire, cosmétique, pharmaceutique, etc**… [86];[87].**

Le traitement par "*Détente Instantanée Contrôlée D.I.C.*" est utilisé en vue d'extraire les arômes et les huiles essentielles à partir de végétaux adéquats naturels ou préalablement séchés. En effet, appliquée aux végétaux, la D.I.C. permet la modification de leur structure, provoquant ainsi leur texturation et facilitant alors les opérations de transfert de matière. L'auto–vaporisation qui accompagne la détente implique la séparation liquide-solide et permet donc l'extraction de composés spécifiques. Cette opération se distingue par un traitement thermique très localisé, durant un temps réduit (quelques dizaines de secondes). Comparée aux autres procédés traditionnels, la D.I.C. (**Figure 04),** est relativement rapide, et donc nettement plus flexible. D'un rendement supérieur, la méthode est comparable à l'extraction par CO2 supercritique au niveau de la qualité de l'extrait, alors que la consommation énergétique est inférieure à celles de la distillation et par entraînement

à la vapeur. Les différents aspects de la qualité sont ainsi couplés : ceux du produit fini, ceux du procédé et ceux de son impact environnemental :

- Vecteur qualité *:* Améliorer la qualité de l'extrait obtenu par élimination de la dégradation thermique et de la présence de solvants résiduels.
- Vecteur environnemental *:* Réduire les rejets de solvants, d'eau usée et de matières résiduelles.
- Vecteur énergétique *:* Réduire la consommation énergétique nécessaire à l'extraction des huiles essentielles.




. **Figure III. 4**: Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traitement.

La Détente Instantanée Contrôlée (DIC) trouve des applications diverses dans le séchage des fruits et légumes, et dans la décontamination microbienne. Elle offre également des avantages économiques (vitesse, coût), et qualitatifs (stérilisation, qualités organoleptiques, contenu en vitamines) **[88].**

## III-6-Extraction par solvants volatils :

La technique d'extraction classique par solvant, consiste à placer dans un extracteur un solvant et la matière végétale à traiter. Grace à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatique, avants d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique. Le produit ainsi obtenu est appelé « concrète «. Cette concrète pourra être par la suite brassée avec de l'alcool absolu, filtrée et glacée pour en extraire les cires végétales. Après de dernière concentration, on obtient une « absolue «. Les rendements sont généralement plus important par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de l'eau on de la vapeur d'eau. Du fait de technique évite solvants organiques, cette technique présente toutefois des inconvénients qu'il est important de noter. En effet, l'intervention de solvants organique peut entrainer de risque d'artéfacts et des possibilités de contamination de l'échantillon par des importantes parfois difficile à élimine. Le solvant choisi en plus d'être autorisé devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière, ou l'oxygène, sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. Parmi les solvants les plus utilisé, on recense : le méthanol, le l'éthanol, le éther de pétrole ou encore le dichlorométhane. Cependant depuis quelque décennie, l'extraction par solvant a connu d'intéressantes améliorations. L'hydrodisillation_extraction simultanée l'extraction par Soxhlet sont les principales **[89]**

L'extraction par l'appareil de Soxhlet consiste à faire passer à travers la matière à traiter contenue dans une cartouche de cellulose, un flux descendant de solvant toujours neuf puisque distillé à chaque cycle. Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides, ou de diverses autres catégories de molécules.

De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons.

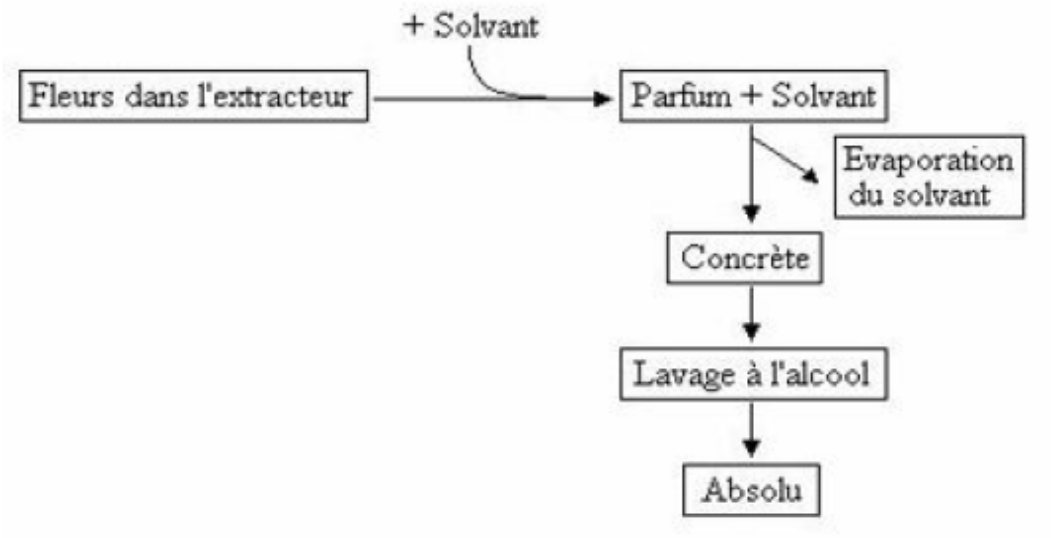



**Figure III.5**: l'extraction par solvants volatils [**90]; [91].**

## III-7-L'expression à froid :

L'extraction par expression a froid, est souvent utilisée pour extraire les huiles essentielles des agrumes. Son principe consiste a rompre mécaniquement les poches a essences. L'huile essentielle est séparée par décantation ou centrifugation. D'autres machines rompent les poches par dépression et recueillent directement l'huile essentielle, ce qui évite les dégradations liées a l'action de l'eau **[92].**

## III-8-Extraction par ultrasons

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons (20 – 100 kHz) est une technique émergente qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie [**93].** En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps elle est soumise à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatique ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique **[94]; [95];[96];[97];[98]; [99];[100].**

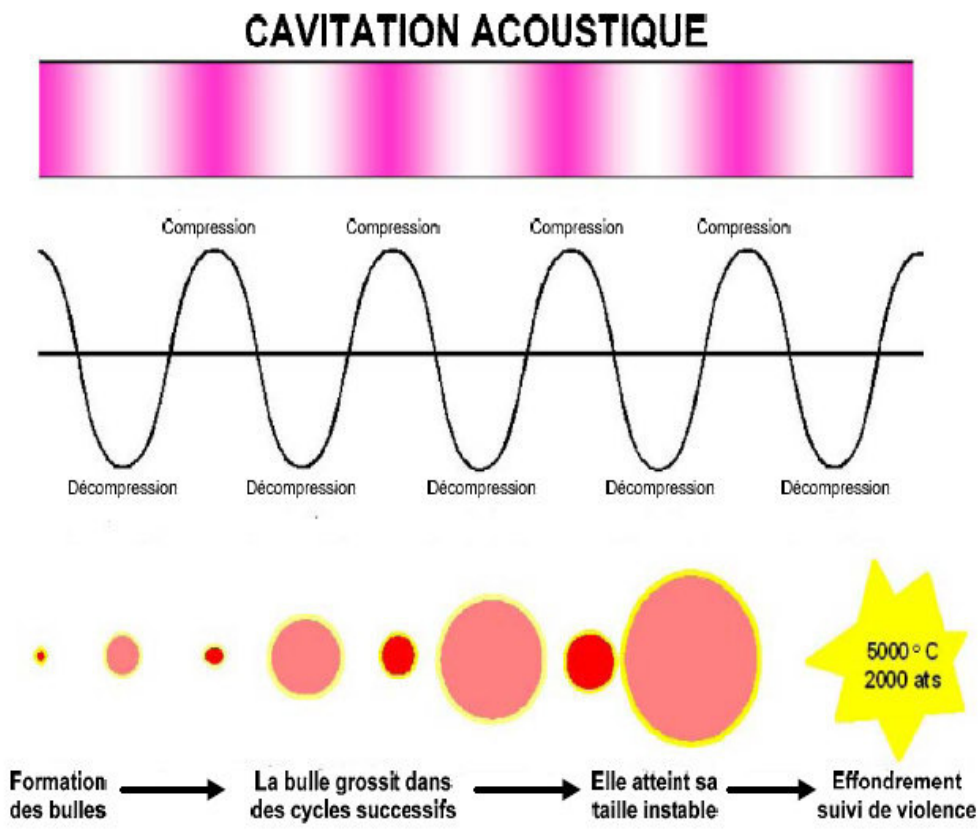



**Figure III.6**: Schéma démonstratif de la cavitation ultrasonore**.**

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles, formées par l'expansion, vont se développer puis dégonfler. Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides **(Figure III.6).**

D'après [**97**], les mécanismes d'extraction impliquent deux phénomènes physiques :

- ✓ Les molécules peuvent parfois traverser la paroi cellulaire par simple diffusion
- ✓ Le contenu des cellules peut être « lessivé» après destruction des parois cellulaires, afin de récupérer l'ensemble des composés d'intérêt.

Les ultra-sons permettent d'améliorer ces deux phénomènes. Ils pourraient augmenter le rendement, diminuer la quantité de solvant nécessaire et/ou le temps de traitement **[101].**

## III-9-L'extraction au CO2 supercritique

La technologie du CO2 supercritique est basée sur le pouvoir solvant du CO2 qui est modulable à volonté selon les conditions de pression et de température qu'on lui applique.

A l'état supercritique (plus de 74 bar et de 31°C) le CO2 possède des propriétés très particulières : une grande diffusivité, comme celle d'un gaz, et une densité élevée, permettant une capacité d'extraction et de transport importante.

Un procédé d'extraction par CO2 supercritique fonctionne en circuit ferme. Il comporte des organes de mise en pression (pompes) et en température (échangeurs) afin d'amener le CO2 au-dessus de son point critique.

Le produit a traiter est place dans un extracteur traverse par le flux de CO2 supercritique. Le fluide se charge en compose extrait, puis il est détendu, passe en phase gazeuse et se sépare du compose extrait. Ce dernier est recueilli dans un séparateur. **[102]**

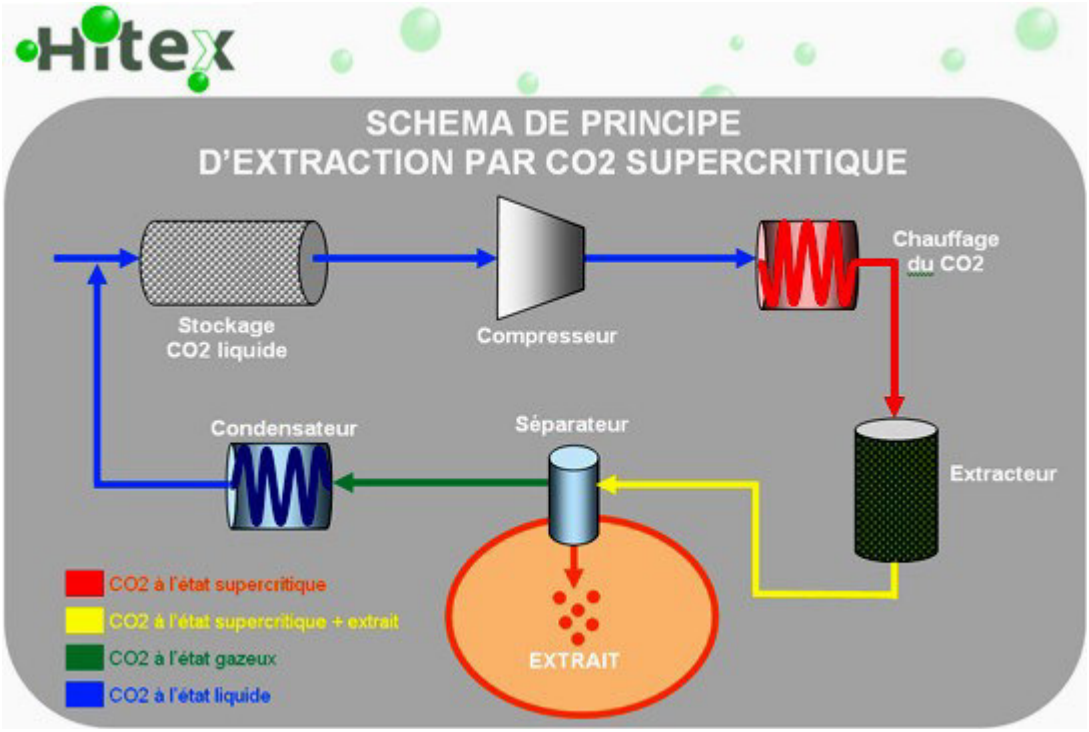



**Figure III.7**: schéma de principe d'extraction au CO2 supercritique

Les molécules solubles dans le CO2 supercritique, donc extractibles, sont les composes peu polaires de faible masse moléculaire, tels que les composes aromatiques, des alcools, des esters, de nombreux pigments, les stérols… Une étude tend a prouver que cette méthode d'extraction entraine les métaux lourds dans une proportion a peine supérieure a celle retrouvée avec la distillation par entrainement a la vapeur d'eau **[103**]Ce procédé produit des ***Extraits aromatiques***.

*Partie expérimentale*

*Matériels et méthodes*

## IV-1-Introduction

Dans le cadre de ce travail, nous avons procédé à l'extraction de fleur et feuille de la plante *Mentha pulegium L* par : hydrodistillation type clevenger et avons procédé à l'étude effets biologique (pouvoir antioxydant et pouvoir inflammatoire). Le travail est réalise hydrodistillation type clevenger au laboratoire biomasse ENS, Kouba, et la partie effet biologique pouvoir antioxydant au laboratoire de biologie lycée universités de Médéa, et pouvoir inflammatoire au niveau de la filiale Antibioticale de Médéa (laboratoire de pharmaco-toxique).

## IV-2-Méthodologie :

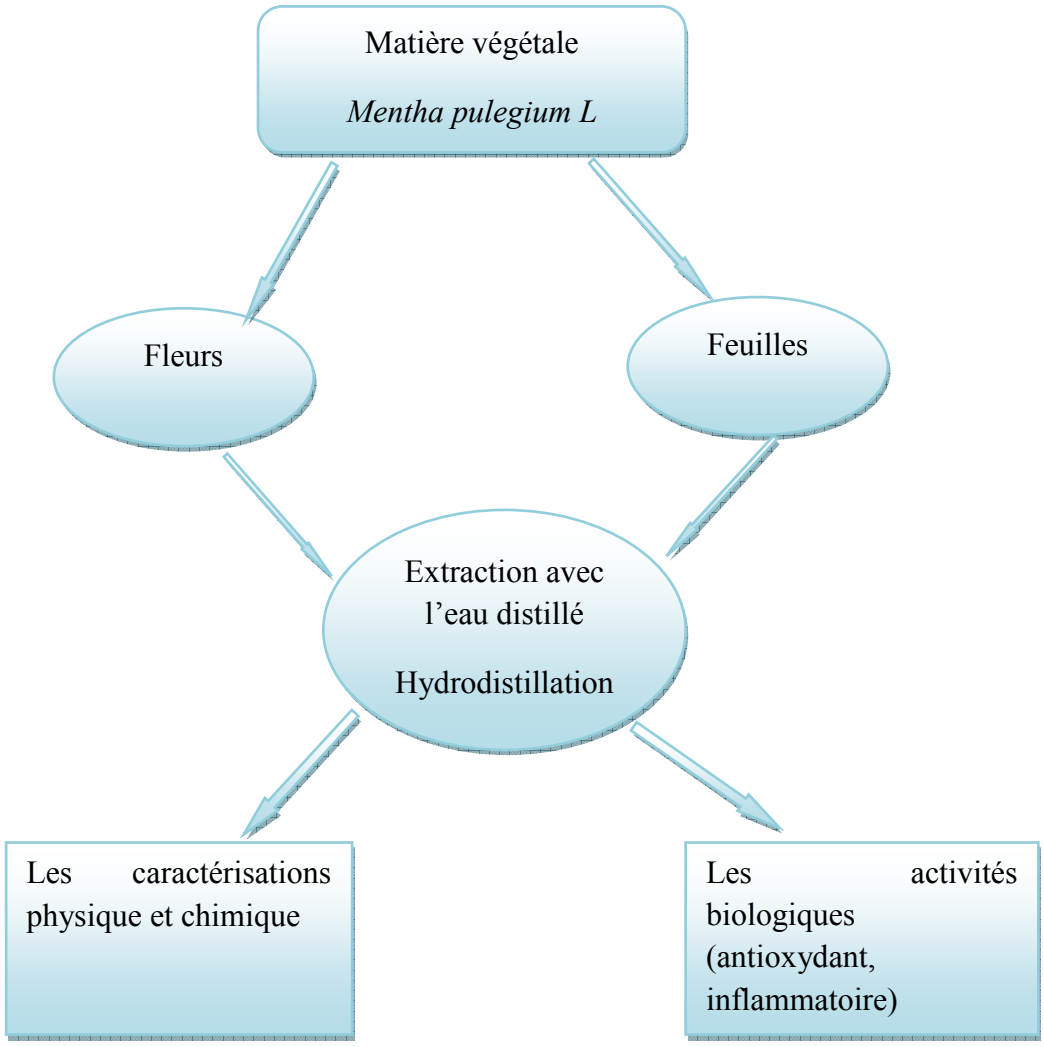



**Figure IV.1 :** schéma de la méthodologique suivie.

## IV-3- Matériel :

## IV-3-1-Matériel non biologiques :

**IV-3-1-1-Appareillage :** Voir **(Annexe).**

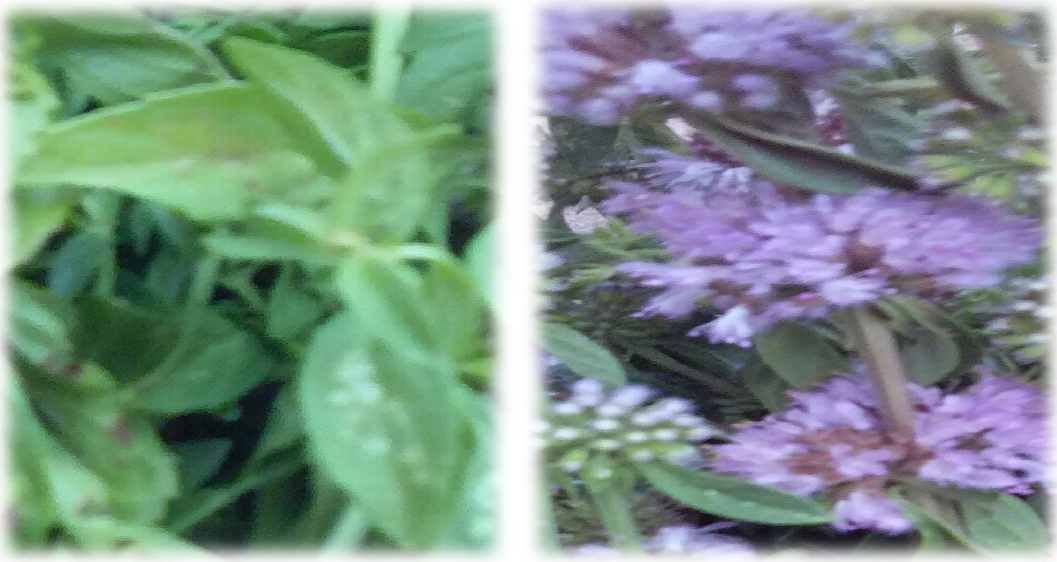
**IV-3-1-2- Verrerie et accessoires :**

La verrerie et les accessoires utilisés sont présentés dans l'**Annexe.**

## IV-3-2-Matériel biologique :

**IV-3-2-1-Matière végétale :**

La matière végétale utilisée dans cette étude est constituée d'une plante (**figure IV.2**). La *Mentha puleguim L* est un récolté dans la région Tablet de Médéa durant mai (feuille) /Aout (fleur) 2017. On utilisée l'obtention des huiles essentielles, mis à sécher à l'air libre et la lumière.



**a** **b**

**La Mentha puleguim L a-Feuilles b- Fleurs**

**Figure IV.2:** photo de la plantes étudies de *Mentha puleguim L* **(original)**

**I-2-2 Matériel animal :**

- **Pour le test anti-inflammatoire :**

Le tableau présente le matériel animal utilisé et les conditions opératoires :

**Tableau IV.1 :** les matériels utilisés et les conditions opératoires

| **Animal** | **Souris albinos** |
|---|---|
| **Nom scientifique** | Mus musculus |
| **Référence** | Souche N.M.R.I (Naval Médical Research Institut).<br>D'origine swiss, importée d'IFFA-CREDO (lyon) |
| **Effectif** | 4lot +17 souris chacun lot 5 souris +lot + témoin |
| **Poids(g)** | 17-24 g |
| **Sexe** | Male et femelle |
| **Nourriture** | Tourteau, agglomères, composés de mais, son, remoulage, soja, CMV. |
| **Boisson** | Eau de robinet (eau potable). |
| **Température de laboratoire(C°)** | 18-24 T° ambiante |
| **Elevage** | Complexe antibiotical site de production de Medea (Saidal). |

## IV-4- Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles à été effectuée par hydrodistillation dans appareil de type clevenger

- **Principe :**

Les huiles essentielles la plante Mentha puleguim L est extraite par le procédé d'hydrodistillation, grâce à un appareil du type Clevenger (**figure IV.3**) qui est constitué d'une chauffe ballon qui permet la distribution homogène de la chaleur dans le ballon, un ballon en verre pyrex où l'on place la matière végétale séchée et l'eau distillée.

Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. La vapeur saturée en huiles essentielles traverse un serpentin où elle se condense pour donner deux produits: l'eau florale et l'huile essentielle.

- **Mode opératoire :**

Les matérielles végétales fleurs (feuilles), séché et coupé en petit morceaux au préalable. Le montage élabore pour hydrodistillation du type Clevenger est représenté dans la **figure IV.3** est décrit comme suit :

- ✓ Dans un ballon 4l, on introduit de matière végétale 40,99g de fleurs (50g de feuilles) Mentha puleguim L.
- ✓ Ensuite ; on y ajoute une quantité suffisante l'eau distillé sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements lors de l'ébullition.

- ✓ Le mélange est porté à ébullition à l'aide de la chauffe ballon pendant 1 h pour les fleurs (feuilles 30 min). Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le tube vertical puis dans le serpentin de refroidissement où aura lieu la condensation.

- ✓ Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans un collecteur. L'huile essentielle de faible densité par rapport à l'eau, surnage à la surface de cette dernière. L'huile ainsi obtenue est récupérée par décantation puis traitée par un déshydratant

- ✓ Elle est alors conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4 à 5ºC).



**Figure IV.3**: le montage élabore pour hydrodistillation du type Clevenger **(original)**

## IV-4-1-Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée **[77]. (**Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{m}{M} \times 100 \quad \text{(IV.1)}$$

R : Rendement en huile essentielles exprimé en %.

m : masse de l'huile essentielle en gramme.

M : Masse d'échantillon en gramme.

## IV-4-Détermination des mesures des constantes physico- chimiques

### IV-4-1-L'indice de réfraction :

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'extrait maintenue à une température constante. Il est le meilleur critère de pureté. La mesure a été effectuée en utilisant un réfractomètre **Figure IV.4.**



**Figure IV.4**: Réfractomètre **(original)**

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé, il est supérieur à celui de l'eau distillée à 20°C (=1,333), ceci montre leur richesse en composants qui dévient la lumière polarisé.

L'échantillon d'extrait est mis dans le réfractomètre puis on lit la valeur sous la lumière**.**

## Mode opératoire :

- ✓ On Place 2 à 3 gouttes de l'HE à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure jusqu'au trait de signale.
- ✓ Refermer le couvercle pendant 15 second (temps nécessaire pour que l'appareil sont stabilisé à 20 C°).
- ✓ Régler avec les deux boutons, jusqu'à la localisation du trait signale au centre de la cellule
- ✓ A la fin on lit la valeur de l'indice de réfraction sur cercle gradué.

## IV-4-2-Densité relative :

La densité (la masse volumique) est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume.

En définie La densité relative à 20 °C d'une huile essentielle est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile à 20°C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C et son symbole est $d_{20}^{20}$

- ➢ **Mesure de densité :**

Pour définir la densité de notre huile on a supposé une méthode qui dépend sur la mesure de volume et la masse d'huile et on fait le rapport :

$$\rho = \frac{m}{v} \qquad \text{(IV.2)}$$

m = masse d'huile.

V=volume d'huile.

- **Mode opératoire**

Au moyen d'une balance de précision et à l'aide d'un flacon 2.5ml on posé 0.5ml d'HE de choisie, puis on a posé le même volume d'eau distillée.

## IV-5-Études des activités biologiques :

## IV-5-1-Etude de l'Activité antioxidante :

- **Principe**

Le composé chimique 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyle fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques **[104]; [105]**. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par la présence de composés phénoliques.

Le radical synthétique DPPH initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie à l'antioxydant. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques. Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits **[106].**

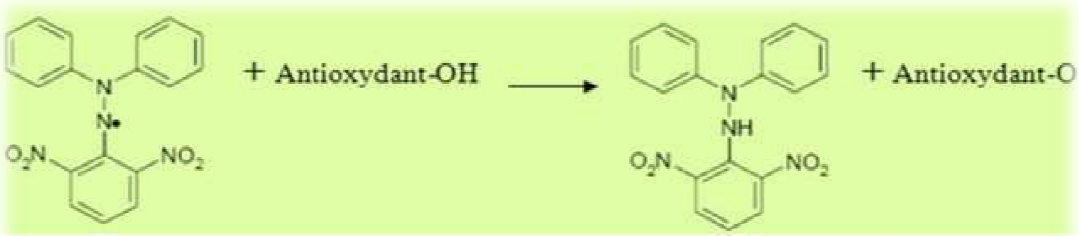



**Figure IV.5**: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH **[107]**

❖ **Mode opératoire**

Le pouvoir radicalaire a été testé en utilisant le DPPH. Cette dernière comprend les étapes suivantes :

- ✓ On préparé La solution de DPPH par dissolution de 1.4mg de DPPH dans 25 ml de méthanol.
- ✓ On préparé une solution contrôle, on traduire 5ml de solution de DPPH dans 36ml de méthanol (pour détermine la longueur d'onde de DPPH).
- ✓ On préparé une solution mère (extrait) :
  Fleur : on mélangé 900 µl huile de fleur avec 100 µl de méthanol.
  Feuille : on mélangé 600 µl huile de feuille avec 400 µl de méthanol.
- ✓ Dans un tube à essai sec et stérile on préparé 6 dilutions, en prélevant 500µl de la solution mère (extrait) qui sera rajouté à 500 µl de méthanol (Dilution n° 1), de cette dernière, nous avons prélevé 500 µl que nous avons dilué dans 500 µl de méthanol (Dilution n° 2).Nous avons procédé de la même manière pour préparer les six dilutions
- ✓ A partir de (Dilution n° 2), nous avons mélangés 2.5ml d'une solution méthanolique de DPPH, le mélange réactionnel est agite et incube 30min à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance sont mesurées a 517nm.

L'acide gallique est un antioxydant de référence utilisé comme témoin positif.

## ❖ Expression des résultats :

L'activité antioxydante est exprimée comme le pourcentage d'inhibition calculé en utilisant l'équation suivante:

$$AA\% = \frac{(AbsSC - Absessai)}{AbsSC} \times 100 \qquad (IV.3)$$

Tel que :

**AA :** L'activité antioxydant.

**Abs :** Absorbance à longueur d'onde de 517 nm.

### ❖ Détermination d'IC50 :

La concentration inhibitrice (IC50) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Elle est calculée à partir du graphe de l'activité antioxydante (en %) en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

Une faible valeur d'IC50 indique une forte capacité de l'extrait à agir comme piégeur du DPPH.

## IV-6-2-Etude de l'activité anti- inflammatoire :

### ❖ Principe :

.Le principe consiste à injecter, sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche de la souris, la carragénine provoquant ainsi une réaction inflammatoire qui peut être réduite par produits anti- inflammatoire. Ce test nous a permis de comparer de l'œdème plantaire après administration des doses égales chacun du produit à tester et celui de références **[108].**

**Préparation des solutions :** les préparations des solutions de l'HE de deux doses :

Dose 1 : (20 mg d'HE feuille /2.5ml et 20mg d'HE fleurs /2.5ml)

Dose 2 : (30mg d'HE feuille /2.5ml et 30mg d'HE fleurs/2.5ml)

Et la solution de dichlofénac de sodium à 75mg/750ml, solution l'eau physiologique 0,9% et la carragénines à1%.

❖ **Mode opératoire :**

**a-Animaux** :

-penser les souris dont le poids varie entre 17 à 24g, les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils sont privés d'eau et d'alimentation : 18h avants tester.

**b-Répartition des animaux :**

Les souris ont été réparties en 6 lots de 4 souris

-lot témoin négative.

-lot témoin positive.

- lot dose 1 : (lot3 +lot4)

-lot dose 2 : (lot5 +lot6)

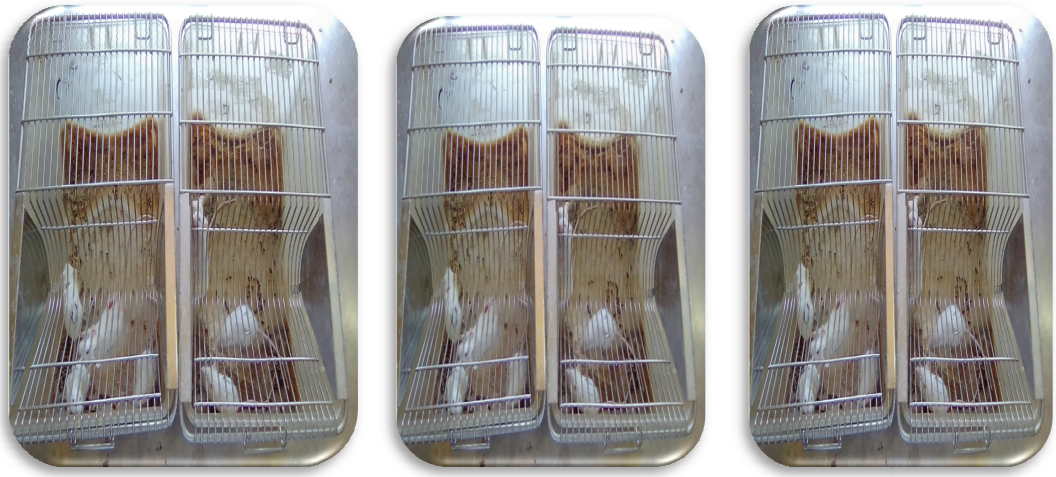


**Figure IV.6:** les six lots souris **(original)**

## c- Administration et injection :

**Au temps T0 (gavage)** : dans notre cas les souris ont été mises à jeun, nous avons administré par voie intra- gastrique (gavage) des suspensions suivantes :

-lot témoin négative : chacun souris à reçu 0.5ml de l'eau physiologique.

-lot témoin positive : chacun souris à reçu 0.5ml de produits de références Dichlofénac).

-lot dose 1 : chacun souris à reçu 0.5ml de l'HE à 20 mg/2.5ml.

-lot dose 2 : chacun souris à reçu 0.5ml de l'HE à 30 mg/2.5ml.



**Figure IV.7**: photo de gavage des souris **(original)**

**Au temps T0+30 min** : les souris des six lots ont reçu 0.03 ml de la carragénine chacune et cela par injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche.

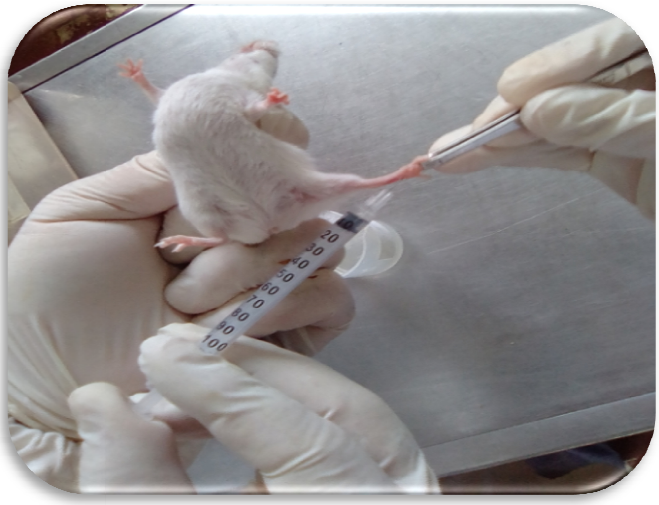


**Figure IV.8**: l'injection de la carragénine **(original)**

**Au temps T0+4h** : sacrifier les souris par dislocation cervical (produits de éther).et coupé les pattes postérieures droites et gauches à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique.



**Figure IV.9**: sacrifier des souris et couper les pattes **(original)**

❖ **Expression des résultats :**

-calcule les moyennes arithmétique des poids de la patte gauche et la patte droite pour chacun lot.

- calcule du pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) est donné par l'expression suivante équation :

$$\%\ \text{l'œdème} = \frac{\text{moyennes des poids de patte gauche} - \text{moyennes des poids de patte droite}}{\text{moyennes des poids de patte droite}} \times 100 \quad \text{(IV.4)}$$

- calcule de pourcentage de réduction de l'œdème cher les souris traitées par rapports au témoin équation :

$$\%\ \text{de réduction de l'œdème} = \frac{\%de\ l'oedème\ témoin - \%\ l'oedèmeessai}{\%de\ l'oedème\ témoin} \times 100 \quad \text{(IV.5)}$$

*Résultats et discussions*

## V-1-Introduction :

Dans un chapitre précédent ont permis d'obtenir les résultats expriment qui sont utilise les différentes méthodes traites et interprètes dans ce qui suit.

## V-2-Cinétique d'extraction:

Lors des expériences servant à établir la cinétique d'extraction, l'extraction est périodiquement arrêtée, l'huile essentielle fleur et feuille de *Mentha puleguim L* récupérée est pesée à des intervalles de temps de 2et 5 minutes respectivement qui s'étalent de 0 à 165minutes. Ensuite l'extraction est reprise. A partir de ces mesures du poids de l'huile essentielle on en déduit le rendement de chaque prise à partir de la formule du rendement (%) et ainsi on construit la courbe de la cinétique d'extraction en fonction du temps. Le résultat est illustré dans **les figures V.1 et V.2**. Cette étude a pour but de fixer le temps nécessaire pour extraire le maximum d'huile et pour éviter les pertes de temps et d'énergie.

**Tableau V.1** : Cinétique d'extraction par HD type clevenger d'HE de fleur

| T(min) | 2 | 7 | 12 | 27 | 42 | 72 | 102 | 132 | 162 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| m(g) | 0.45 | 1.05 | 1.26 | 1.62 | 1.62 | 1.62 | 1.62 | 1.62 | 1.62 |
| R(%) | 1.25 | 2.623.15 | 4.05 | 4.05 | 4.05 | 4.05 | 4.05 | 4.05 | 4.05 |

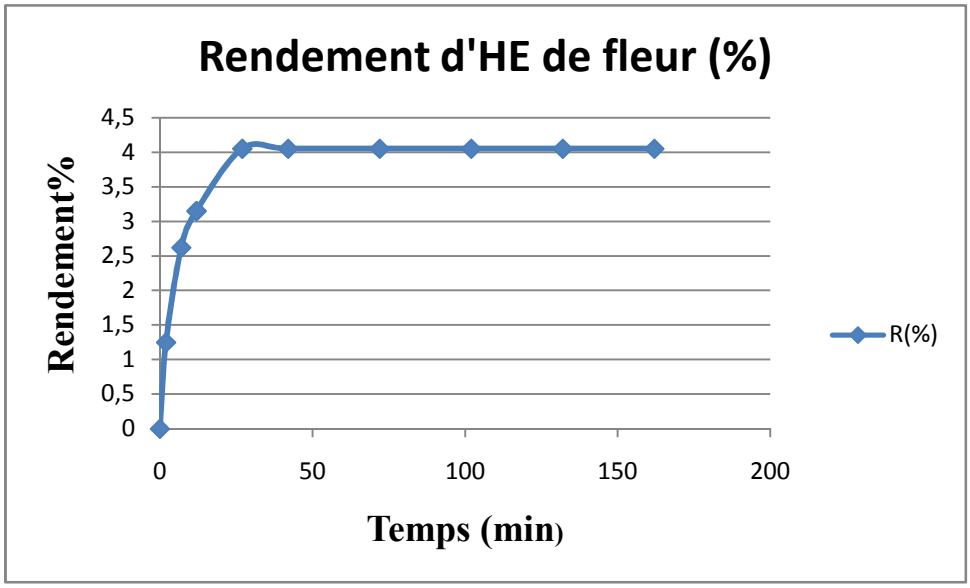


**Figure V.1.** Évolution de rendement en fonction de temps d'extraction par HD type clevenger d'HE de fleur.

Ces résultats (**Figure V.1)** montrent que la vitesse d'extraction de l'huile essentielle de fleur de *Mentha peluguim L* est très rapide. Le rendement augmente en fonction du temps puis il se stabilise. En effet, l'extraction complète est achevée en moins de 30 min.

**Tableau V.2:** Cinétique d'extraction par HD type clevenger d'HE de feuille

| T(min) | 5 | 10 | 15 | 20 | 35 | 65 | 95 | 125 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| m(g) | 0.184 | 0.322 | 0.391 | 0.46 | 0.529 | 0.575 | 0.575 | 0.575 |
| R(%) | 0.540 | 0.946 | 1.149 | 1.352 | 1.555 | 1.690 | 1.690 | 1.690 |

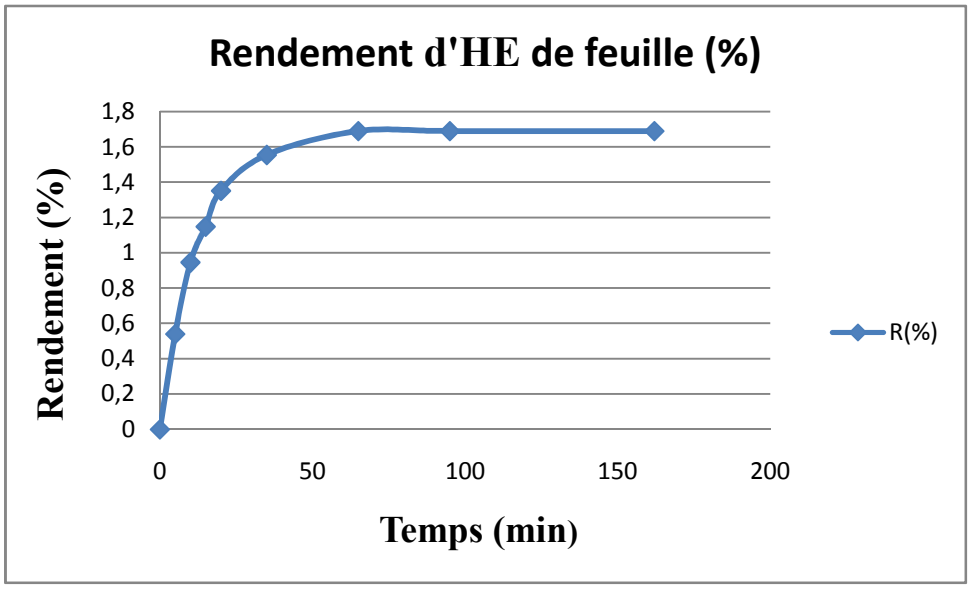



**Figure V.2 :** Évolution de rendement en fonction de temps d'extraction par HD type clevenger d'HE de feuille.

Concernant la cinétique d'extraction de l'huile essentielle de feuille de *Mentha pulegium L* (**Figure V.2)**, elle est aussi très rapide et indique que le rendement augmente rapidement en fonction du temps puis il tend vers un palier à partir de 60 min.

## V-3-Rendement en huile essentielles :

Dans cette partie, le rendement de l'extraction de l'huile essentielle de la *Mentha pulegium L* par hydridistillation est donné on démarre d'un échantillon 40.99 g de fleur (50 g de feuille). La quantité d'huile essentielle permet de donnée le rendement sa basant sur l'équation (IV.1) : Les résultats obtenus sont illustrés dans le **tableau 03**

**Tableau V.3**: Rendement d'extraction des deux huiles essentielles

| huile essentielle | Feuille | Fleur |
|---|---|---|
| Rendement R(%) | 1.71% | 4.05% |

Le rendement en HE est influencé par plusieurs paramètres parmi lesquels citons : la teneur en eau, la nature de la plante, l'origine, la période de récolte, la durée de séchage et la technique d'extraction utilisée et la masse de la plante utilisée.

La plante des régions dont le climat est sec donne un rendement assez élevé en HE, vu qu'elle contienne une teneur faible en eau.

L'extraction de l'huile essentielle de fleur et feuille de *Mentha pulegium L* a donné un rendement de 4.05% et 1,17% respectivement.

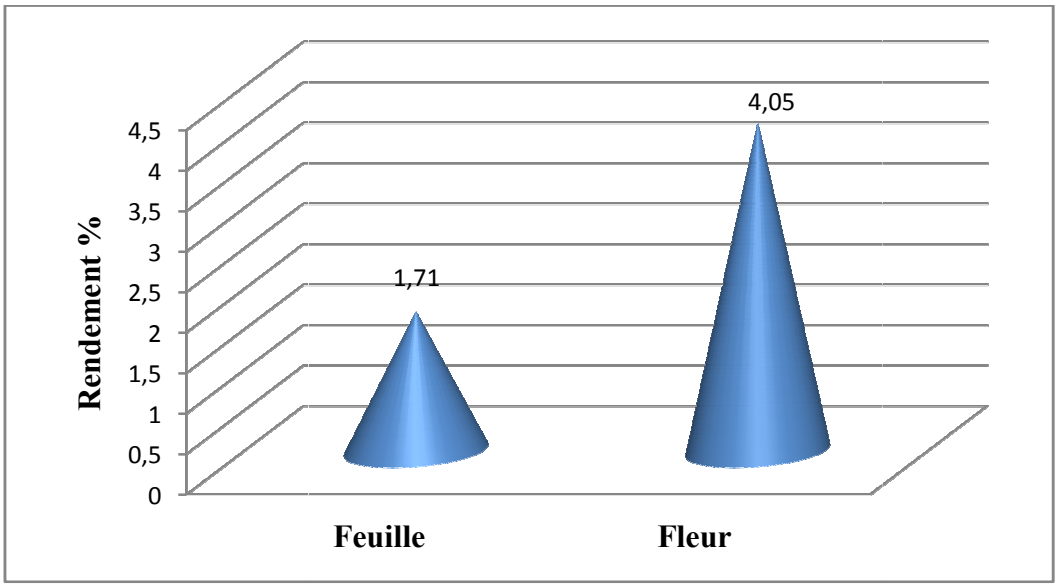



**Figure V.3.** Rendement en huile essentielle de fleur et feuille de *Mentha pulegium L*

## V-4-Caractérisation physique et chimique des huiles essentielles :

L'un des paramètres essentiels concernant la qualité des huiles essentielles est bien évidemment les caractères physico-chimiques. Ceux-ci nous permettent de confirmer la qualité des huiles essentielles feuille et fleur de *Mentha pulegium L* par l'analyse de leur densité relative et indice de réfraction à 20 °C. Les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau 04.

**Tableau V.4** : Caractéristiques physiques et chimique des huiles essentielles feuille et Fleur de *Mentha pulegium L*

| Huile essentielle | Feuille | Fleur |
|---|---|---|
| Densité relative | 0,897 | 0,876 |
| Indice réfraction | 1,475 | 1,484 |

- Les valeurs obtenues de la densité relative de feuille et de fleur de *Mentha pulegium L* est appartiennent aux normes.
- Les valeurs obtenues de l'indice réfraction de feuille et de fleur de *Mentha pulegium L* est appartiennent aux normes.

## V-5-Évaluation de L'activité antioxydante:

L'activité antioxydante des huiles essentielles de fleur et de feuille de *Mentha pulegium L* est évaluée par le test de piégeage du radical DPPH. Il est bien connu que quand une solution de DPPH est mélangée avec celle d'une substance contenant des antioxydants, le radical libre stable DPPH (couleur violet foncé) est converti en 1,1-diphényl-2-picryle hydrazine ce qui entraîne une décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm**.**

Le test antioxydant est réalisé en utilisant la méthode de DPPH. Les résultats obtenus sont regroupés dans **les tableaux 05 et 06**.

**Tableau V.5**. Absorbances des différents échantillons testés sur la fleur

| Concentration de l'HE (mg/ml) | Abs échantillon | A% |
|---|---|---|
| 75,4 | 0,044 | 95,75 |
| 37,7 | 0,224 | 75,6 |
| 18,85 | 0,446 | 55,4 |
| 9,42 | 0,571 | 42,9 |
| 4,71 | 0,786 | 21,4 |
| 2,35 | 0,993 | 0,7 |

**Tableau V.6**. Absorbances des différents échantillons testés sur la feuille

| Concentration de l'HE (mg/ml) | Abs échantillon | A% |
|---|---|---|
| 19,7 | 0,035 | 96,48 |
| 9,85 | 0,292 | 70,8 |
| 4,92 | 0,435 | 56,48 |
| 2,46 | 0,672 | 32,78 |
| 1,23 | 0,99 | 0,5 |

Les valeurs obtenues ont permis de tracer des courbes du Variation de l'absorbance des échantillons de DPPH en fonction de la concentration en HE pour chaque extrait des plantes. D'après les résultats représentés dans les **figures 04 et 05.**

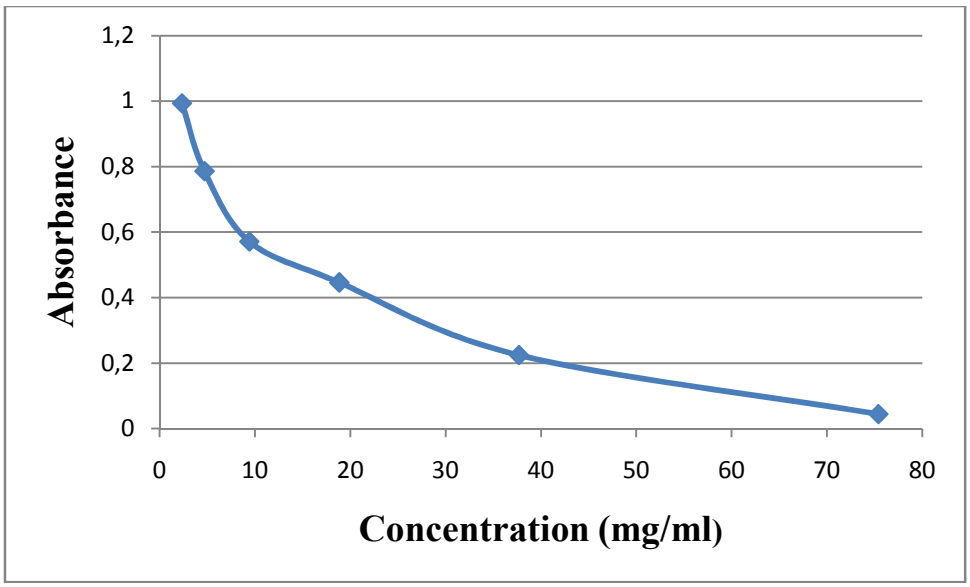



**Figure V.4**. Variation de l'absorbance des échantillons de DPPH en fonction de la concentration en HE de fleur

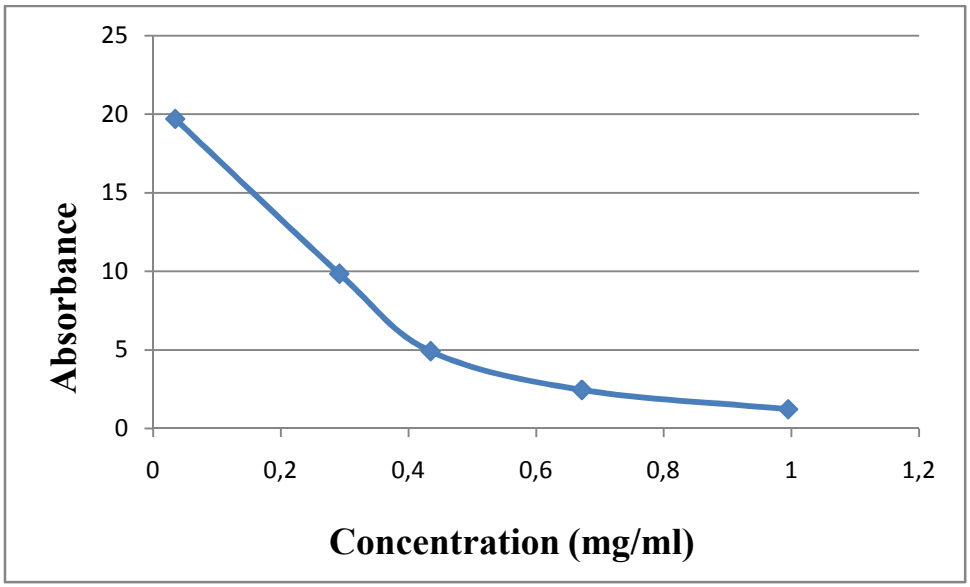



**Figure V.5:** Variation de l'absorbance des échantillons de DPPH en fonction de la concentration en HE de feuille

Sur cette les figures, il apparait clairement que fleur et feuille de *Mentha peluguim L* possède une activité antioxydante. La diminution de l'absorbance de la solution de DPPH, contenant l'HE de fleur et feuille à différentes concentrations en HE, traduit la réduction du DPPH• en DPPH-H donc la diminution de la concentration initiale de ce radical en comparaison avec le contrôle (Acide gallique). La quantité de DPPH-H formée dépend de la concentration en antioxydants.

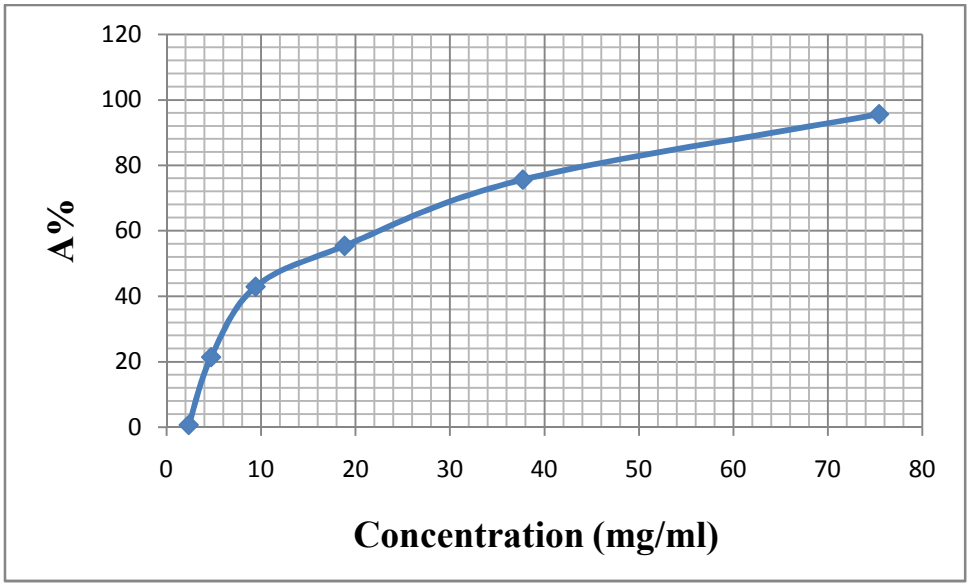



**Figure V.6:** Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations en HE de fleur.

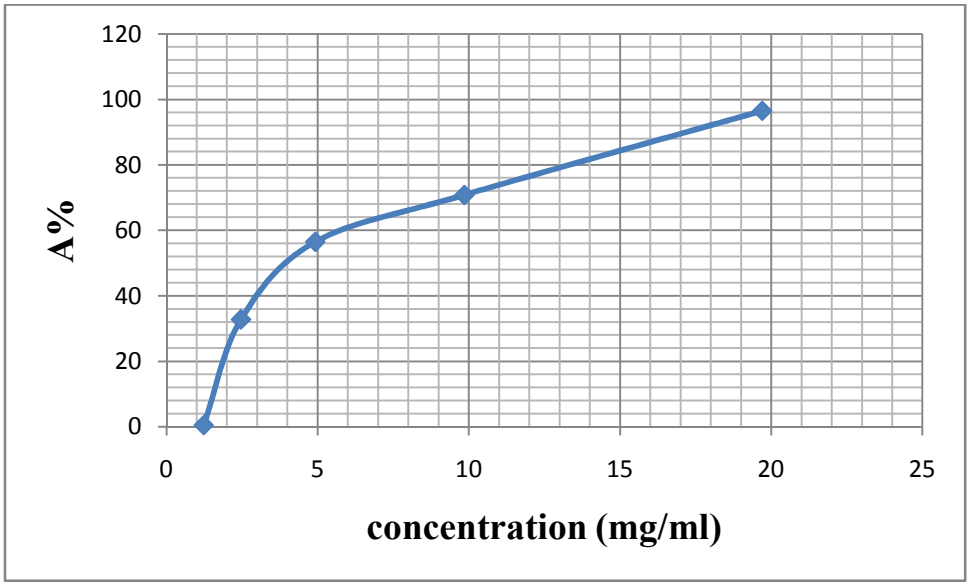



**Figure V.7:** Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations en HE de feuille.

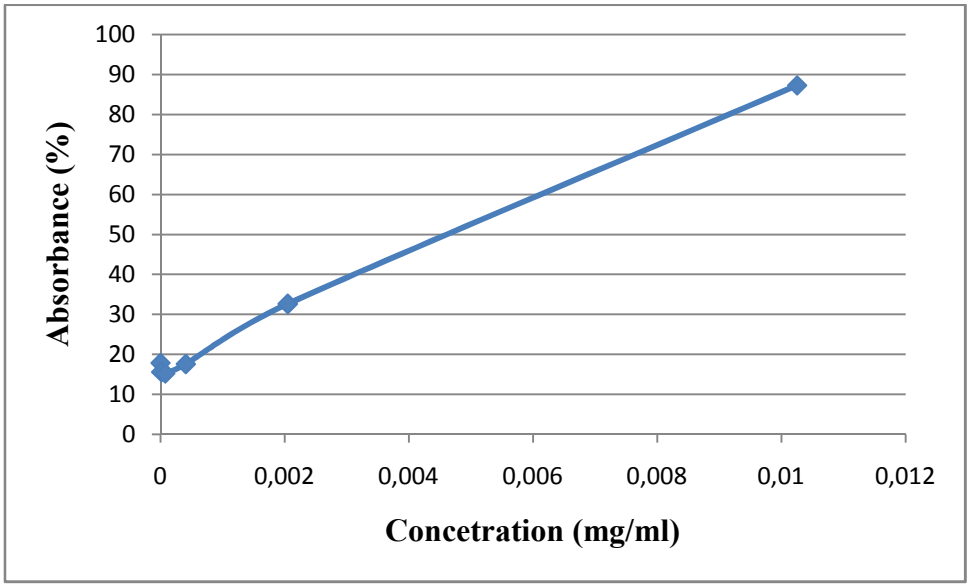



**Figure V.8** : Variation du pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations d'acide gallique.

L'IC50 est inversement lié à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydants requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande.

A partir de la courbe de variation du pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de la concentration en HE illustrée sur **Tableau V.7**

**Tableau V.7** : Les valeurs des $IC_{50}$ des différents extraits

| Extraits et antioxydants de référence | IC50 (mg/ml) |
|---|---|
| Les huiles essentielles de fleur | 14,94 |
| Les huiles essentielles de feuille | 4,1 |
| Acide gallique | 0,00444 |

L'huile essentielle de fleur a montré une activité antioxydante supérieure à celle de l'huile essentielle de feuill*e* de *M.pulegium* En effet, l'huile essentielle de fleur a pu ramener le radical libre 2.2 diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) au diphenylpicrylhydrazine jaune-coloré avec un IC50 de 14,94 mg/ml alors que l'IC 50 de l'huile essentielle de feuille était de 4,1 mg/ml. Les deux huiles essentielles ont

montré une activité antioxydante largement supérieure à celle du AG qui a une IC50 égale à 0,00444 mg/ml. Il semble d'après ces résultats que le AG est l'antioxydant le plus efficace avec une IC50 de 0,00444 mg/ml par rapport aux deux huiles essentielles étudiées. Donc l'activité antioxydant d'un huile essentielle fleur est un meilleure par rapport huile essentielle de feuille.

L'étude activité antioxydant d'huile essentielle de fleur et de feuille de *Mentha puleguim L,* a montré que les deux huile présente des proprietes antioxydant.

## V-6-Évaluation de l'activité anti inflammatoire :

L'activité anti-inflammatoire est obtenue en administration d'HE de plantes sur des souris. Les résultats de l'étude sont consignés dans le **tableau V.8.**

**Tableau V.8** : Récapitulation des résultats de l'administration d'HE de la plante sur les souris.

| **Lot Témoin** | | **Lot Référence** | | **Lot dose 1** | | | | **Lots dose2** | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | **fleur** | | **feuille** | | **fleur** | | **feuille** | |
| **Patte Droite** | **Patte gauche** | **Patte droite** | **Patte gauche** | **Patte droite** | **Patte gauche** | **Patte droite** | **Patte gauche** | **Patte droite** | **Patte gauche** | **Patte droite** | **Patte Gauche** |
| **0.1592** | **0.1599** | **0.1713** | **0.2066** | **0.0980** | **0.1509** | **0.1272** | **0.1735** | **0.1041** | **0.1505** | **0.1289** | **0.1670** |
| **0.1477** | **0.2004** | **0.1728** | **0.1843** | **0.1133** | **0.1638** | **0.0991** | **0.1427** | **0.0915** | **0.1438** | **0.1413** | **0.1628** |
| **0.1157** | **0.1636** | **0.1482** | **0.1897** | **0.1252** | **0.1670** | **0.0955** | **0.1514** | **0.0910** | **0.1222** | **0.1154** | **0.1694** |
| **0.1426** | **0.1723** | **0.1136** | **0.1572** | **0.1423** | **0.1756** | **0.1015** | **0.1680** | **0.1160** | **0.1507** | **0.1087** | **0.1593** |
| **La Moyenne 0.1413** | **La Moyenne 0.1740** | **La Moyenne 0.1514** | **La Moyenne 0.1844** | **La Moyenne 0.1197** | **La Moyenne 0.1643** | **La Moyenne 0.1058** | **La Moyenne 0.1589** | **La Moyenne 0.1006** | **La Moyenne 0.1418** | **La Moyenne 0.1235** | **La Moyenne 0.1646** |

| | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **% d'augmentation d'œdème = 23.14%** | | **% d'augmentation d'œdème = 21.79%** | | **% d'augmentation d'œdème = 37.25%** | | **%d'augmentation d'œdème =50.18%** | | **% d'augmentation d'œdème =40.95%** | | **% d'augmentation d'œdème =33.27%** | |
| | | **% de réduction d'œdème = 5.83%** | | **% de réduction d'œdème = 60.97%** | | **% de réduction d'œdème = 118.85** | | **% de réduction d'œdème = 76.96%** | | **% de réduction d'œdème =43.77%** | |

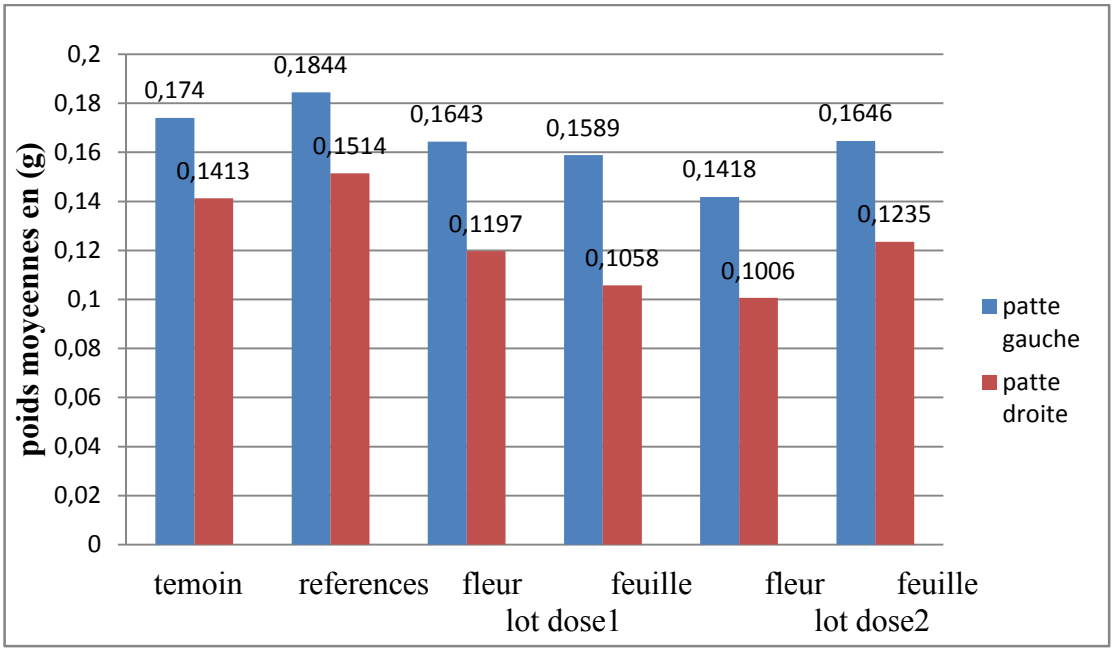



**Figure V.9:** Evolution de poids moyennes des pattes droites et pattes gauches des souris des six lots.

❖ **Augmentation de l'œdème**

Les résultats des pourcentages d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des six lots sont reportés sur la **Figure V.10**

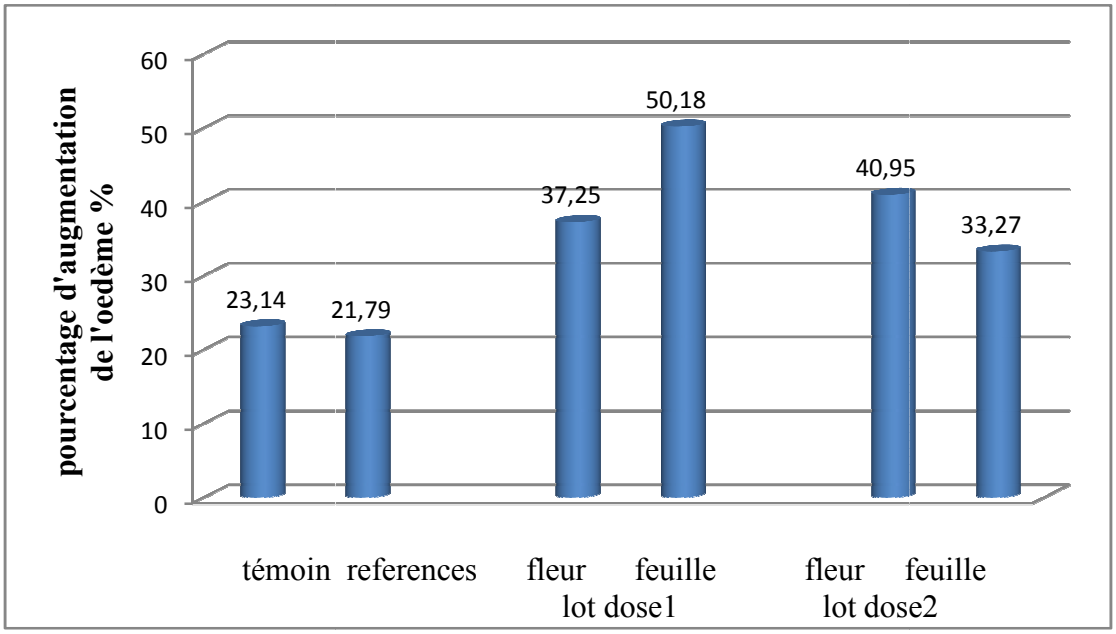



**Figure V.10** le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites des six lots.

D'après l'analyse des résultats de la **Figure V.10**, nous constatons que l'œdème présente un plus fort pour les deux lots essai ayant reçu les extraits fleur et de feuille, en comparaison avec ceux du témoin (eau physiologique) qui présente une le pourcentage d'augmentation de l'œdème des pattes gauches par rapport aux pattes droites **23,14%,**ainsi que les lots traités par le produit de référence (Diclofenac de sodium) où le pourcentage atteint **21,79%.**

La figure montre également dans un lot dose1 que : le pourcentage d'augmentation de l'œdème de feuille **50,18%** plus grand comparable le pourcentage d'augmentation de l'œdème de fleur **37,25%**. Et aussi dans un lot dose2, le pourcentage d'augmentation de l'œdème de fleur **40,95%** grand comparable le pourcentage d'augmentation de l'œdème de feuille **33,27%.**

- **Réduction d'œdème**

Les résultats des pourcentages de réduction de l'œdème de lot de référence et les qautre lots d'essai par rapport ou témoin sont indiqués par la **Figure V.11**

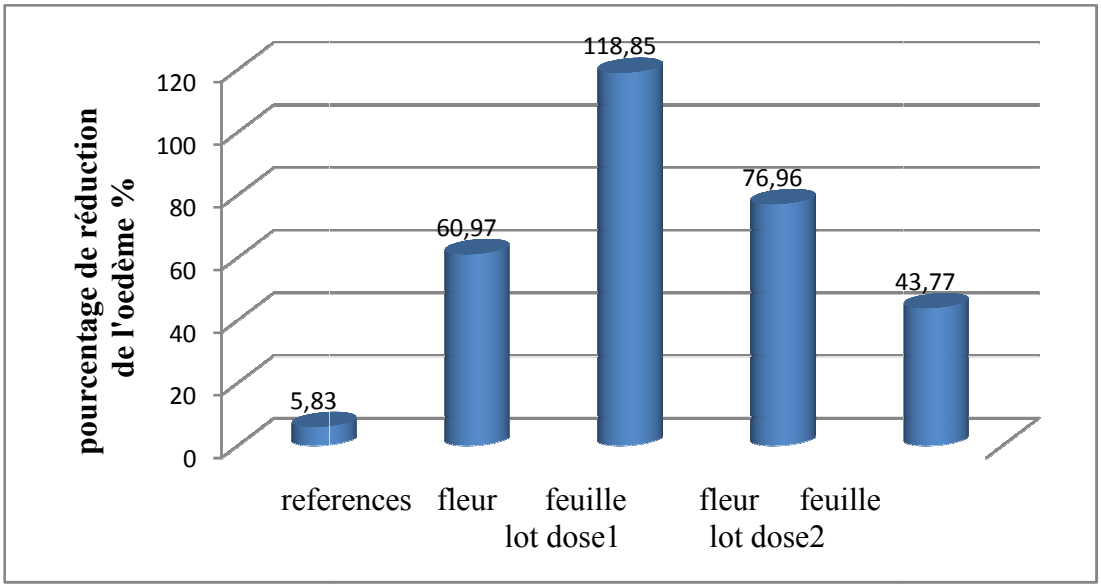



**Figure V.11:** le pourcentage de réduction de l'œdème de lot de référence et les six lots d'essai par rapport ou témoin.

La **figure V.11** nous constantons le pourcentage de réduction de l'œdème des souris traités par le produit de reference le dichlofénac de soduim par rapport au témoin est de **5,83%** et ce pourcentage est réduit dans les deux lots d'assai ( HE de fleur et feuille de plante Mentha puleguim L) qui est de : **lot 1** (fleur **60,97%** et feuille **118,85%)** et **lot 2** ( fleur **76,96%** et feuille **43,77%** ).

L'etude activité anti-inflammatoire d'huile essentielle de fleur et de feuille de *Mentha puleguim L* , a montré que les deux huile présente des proprietes anti-inflammatoire. Dans notre cas, la quantité d'HE est tellement petite que les valeus obtenues sont plus petit que les valeurs de reference.

# *Conclusion générale*

Les plantes médicinales et aromatiques sont utilisées depuis longtemps comme remèdes des maladies humaines puisqu'elles contiennent des composants chimiques de valeur thérapeutique. Selon l'OMS, plus de 80% de la population mondiale dépendent encore de la médecine traditionnelle pour prendre soin de leur santé.
En Algérie, nombreuses sont les plantes décrites pour leurs vertus médicinales, c'est pour cela que nous nous sommes intéressés à étudier l'une de ces plantes, *Mentha puleguim L*

Dans le cadre de notre étude quelques résultats on pu être détermines :

- Etude de l'extraction de l'HE de fleur et de feuille de la plante *Mentha puleguim L* est effectuée par hydrodistillation en utilisant l'appareil Clevenger. La détermination du rendement en huile essentielle de fleur et feuille a montré une rentabilité égale à 4.05 % et 1,71% respectivement.
- Les analyses physico-chimiques réalisées sur l'HE montrent que les deux paramètres étudiés (Densité et l'indice de réfraction).
- Les études des activités anti oxydants par la méthode du DPPH. Les valeurs d'IC50 obtenus expérimentalement d'HE de fleur et de feuille de est égal 14,94 mg/ml 4,1 mg/ml respectivement, et IC50 de référence d'acide gallique est égal 0,00444 mg/ml. Donc l'activité d HE est un fort l'activité anti oxydant.
- Les études des activités anti inflammatoire d'HE de fleur et de feuille montrent que :

- Le pourcentage d'augmentation de l'oedème des pattes gauches par rapport aux pattes droites du témoin est de 23,14%, concernant le lot de référence nous avons remarqué que le pourcentage d'augmentation de l'oedème est 21,79 % et enfin nous signalons un pourcentage d'augmentation de l'oedème pour le lot d'HE de fleur et de feuille dose1 37,25% et 50,18 % et dose2 40,95% et 33,27% respectivement.

- le pourcentage de réduction de l'oedème de la référence Dichlofénac est égal 5.83% et le pourcentage de réduction de l'oedème d'HE de fleur et de feuille est égal de dose1 60,97% et 118,85% et dose2 76,96% et 34,77% respectivement.

*Références*

# *Références bibliographique*


**[1] : K. Lahrech, 2010** "Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* l. et de *Saccocalyx satureioide*. Tests d"activites antibacteriennes et antifongiques," Theses, Universite d'Oran Es-Senia, Oran.

**[2] : Ames B.M., 1983.** Dietary carcinogens and anticarcinogens: oxygen radical and degenerative diseases. *Science*. **221:** 1256–1263.

**[3] : Wang W., Wu N., Zu Y.G. & Fu Y.J., 2008.** Antioxydative activity of *Rosemarinus officinalis L.* essential oil compared to its main components. *Food chem.* **108:** 1019-1022.

**[4] : Essawi T. & Srour M., 2000.** Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *J. Ethnopharmacol*. **70:** 343–349.

[**5] : Houmani Zahia, 2015**. Les plantes aromatiques et médicinales sont une source potentielle de revenus extérieurs (chercheurs). Algérie Presse Service.

**[6] : Quezel P. and Santa S., 1962**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. (Vol. 2). (CNRS, Éd.) Paris.

**[7] : Marotti M.R., 1994**. Effects of variety and ontogenic stage on the essential oil composition and biological activity of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Journal of Essential Oil Research*, 6: 57-62.

**[8] : Sutour, S., 2010**. Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraitsde menthe de Corse et de Kumquats. HAL,thése de doctorat ,Université de CorsePASCAL PAOLI,187p.

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

**[10] : L. F. Silva, M. das G. Cardoso, L. R. Batista, M. de S. Gomes, L. M. A. Rodrigues, D. A. de C. S. Rezende, M. L. Teixeira, M. S. S. Carvalho, J. de A. Santiago, and D. L. Nelson, 2015** "Chemical characterization, antibacterial and antioxidant activities of essential oils of *Mentha viridis* l. and *Mentha pulegium* l. (l)," *Am. J. Plant Sci.*, vol. 6, pp. 666–675.

**[11] : Strauss E., 1985.** Marché, spéculation, stabilisation. *Revues* economica, 96p.

**[12] : Gaussen H., and Leroy H. F 1982**. Précis de botanique, végétaux supérieurs ( éd. 2$^{e}$ édition), 426 p.

**[13] : Benbouali M., 2006.** Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*. These de Magister,Université Hassiba ben bouali chlef, Algérie, 176-177p.

**[14] : Moleyar V. and Narasimham P**., 1986. Antifungal activity of some essential oil components. *Food Microbiology*, 3 : 331-336.

**[15] : Soliman K.M. and Badeaa R.I., 2002**. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. *Food Chem. Toxicol*., 40: 1669-1675.

**[16] : Jazet Dongmo P.M., TATSADJIEU L.N., TCHINDA SONWA E., KUATE J., AMVAM ZOLLO P.H., and MENUT C., (2009).** Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 4(4) : 354-358.

**[17] : Boukhas M., Hnach M., Bourkhiss B., Ouhssine M. et Chaouch A., 2007**. Composition chimique et propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle extraite des feuilles de *Tetraclinis articulata* (Vahl.) du Maroc. *Afrique Science*, 3 (2) ; 232-242.

**[18] : Magina M.D.A., Dalmarco E.M., Wisniewski A., Simionatto E.L., Dalmarco J. B., Pizzolatti M. G., and Brighente I. M. C.,, 2009**. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Eugenia* species. *J. Nat. Med*., 63: 345-350.

**[19] : BOUZOUITA N., KACHOURI F., BEN HALIMA M. et CHAABOUNI M.M.,, 2008.** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *J. Soc. Chim. Tunis*., 10: 119-125.

**[20] : Erler F., Ulug I., and Yalcinkaya B., 2006**. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia*, 77 : 491-494.

**[21] : Tang, G.W., Yang, C.J. & Xie, L.D. J, 2007.** Extraction of *Trigonella foenum-gracum* L. by supercritical fluid CO2 and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (*Coleoptera: Bostrichidae*). *J. Pest. Sci*., 80: 151-157.

**[22] : Cheng S., Huang C., Chen Y., Yu J., Chen W., and Chang S., 2009**. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two *Eucalyptus* species. *Bioresour. Technol.,* 100: 452-456.

**[23] : Jahandiez E. & Marie R., 1934.** Catalogues des plantes du Maroc, spermatophytes et ptéridophytes. Tome III. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

**[24] : Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences Rabat, Maroc.

**[25] : Rana B.K., Singh U.P. & Taneja V., 1997.** Antifungal activity and kinetics of inhibition by essential oil isolated from leaves of *Aegle marmelos*. *J. Ethnopharmacol*. **57:** 29–34.

**[26] : Cantino P.D., 1998.** Binomials, hyphenated uninominals, and phylogenetic nomenclature. *Taxon*. **47:** 425–429.

**[27] : Pacchioni I**.,2014. Aromathérapia tout sur les huiles essentielles, Edition Aroma thera, 352p.

**[28] Mossaddak B., 1995**. Investigation du polymorphisme chimique via la caractérisation chimiotaxinomique des menthes cultivées au Maroc. Thèse de DES ès-sciences physiques, spécialité chimie organique. Rabat : Université Mohammed V, Faculté des Sciences, 197p

**[29] : Dupont F., and Guignard J.-L., 2004**. Botanique des familles de plantes. 13e édition ELSEVIER / MASSON, Paris, 408p

**[30] : Quézel P. & Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Tome 2. CNRS. Ed. Paul Le chevalier, Paris.

**[31] : Bekhechi C., Atik-Bekkara F. & Abdelouahid D.E., 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Origanum glandulosum* d'Algérie. *Phytothérapie.* **6:** 153–159.

**[32] : Arvy M.P. & Gallouin F., 2003.** Epices, aromates et condiments. Ed. Belin, Paris. 412 p.

**[33] : Beloued A. (1998).** Plantes médicinales D'Allgérie O.P.U., 136p.

**[34] : Chalchat J.C. & Pasquier B., 1998.** Morphological and chemical studies of *Origanum* clones*: Origanum vulgare L. ssp vulgare*. *J. Essent. Oil Res.* **10:** 119-125.

**[35] : Aghle, N , Yamini, Y., Hadjiakhoondi, A. et Pourmortazavi, S.M. (2004)** Supercritical carbon dioxide extraction of Mentha pulegium L. Essentiel oil. Talanta 62 : 407-411.

**[36] : Cowan, M.M. (1999)**. Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews 12 :564-582.

**[37] : Ouraini, D., Agoumi, A., Ismaili-Alaoui, M., Alaoui, K., Cherrh, Y., Amrani, M. et al. (2005).** Etude de l'activité des huiles essentielles de plantes aromatiques à propriétés antifongiques sur les différentes étapes du développement des dermatophytes. Phytothérapie

**[38] :** http://www.botanical.com/botanical/mgmh/p/pennyr23.html..

**[39]** : http://www.piscinemaroc.com/fr/huiles-essentielles/156-huile-essentiel-menthe-pouliot.html.

**[40] : FRANCHOMME P., JOLLOIS R. PENOEL D. 2001** : L'Aromatherapie exactement : encyclopedie de l'utilisation therapeutique des extraits aromatiques. Edition Roger Jollois..

**[41] : HANSON A. : Hippocrates 2006** : The "greek miracle" in medicine. The Episcopal Academy. Merion..

**[42] : DESROCHES NOBLECOURT C. 2006** : Le patrimoine de l'Egypte Ancienne. Publication Edhasa.

**[43] : LANGERMANN Y. T. 2010 :** Avicenna and his legacy. A golden age of science and philosophy. Editions Brepols..

**44]: Möller K., 2008.** La distillation à l'alambic, un art à la portée de tous. Ed. UNICO, Paris.

**[45]: Association française de normalisation (AFNOR), 2000.** Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». Tome 2 : Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. AFNOR, Paris.

**[46]: Burt S., 2004.** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94:** 223–253.

.

**[47] BELKOU H, BEYOUD F.et TALEB BAHMED Z,** Approche de la composition biochimique de la menthe vert (*menthe spicata L*) dans la région de Ouargla, Mémoire DES,univ Ouargla .2005. pp 2,61.

**[48] BENKADA**, **1990** : isolation des huiles essentielles de la menthe suaveolens, ehrh (Bous Domrane) de la région de Tlemcen et leur analyse par différents méthodes

chromatographique mise en évidence du composé majoritaire « la pulégone », Thèse Magister.Unive.Tlemcen, pp 42,76.

**[49] Yahyaoui N**. **2005 ;** Extraction, analyse et évaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de M*enthe Spicata L* sur *Rhyzoperlhu dominicu (F .)* (Coleoptera, Bostrychidae) et Triboium *confusm* (Duv.) (Coleoptera, Tenebrionidae).Thèse de Magister en sciences agronomiques, option Ecologie, INA, El-Harrach,

**[50] BOUAMER A .BELLAGHIT M.et MOLLAY AMERA. 2004 ;** Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe vert et la menthe poivrée de la région de Ouargla ; Mémoire DES .Unive. Ouargla, p 2-5 ; 10 ; 19 ; 21-22

**51 Müller-Riebau F.J., Berger B.M., Yegen O. & Cakir C., 1997.** Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* **45:** 4821–4825.

**[52] : Zygadlo J.A. & Juliani H.R., 2003**. Recent progress in medicinal plants. In: Majundar D.K., Govil J.N., Singh V.K., Shailaja M.S. & Gangal *S.V. Phytochemistry and Pharmacology II,* Vol. 8. Studium Press, Houston, Texas. pp: 273-281.

**[53]: Bozin B., Mimica-Dukic N., Anackov G., Zlatkovic B. & Igic R., 2006.** Variability of content and composition of *Mentha aquatica L.* (Lamiaceae) essential oil in different phenophases. *J. Essent. Oil Bear. Pl*. **9(3):** 223-9.

**[54] BRUNETON J, 1999 ;** Pharmacognosie « Phytochimie Plantes » médicinales 3 eme éd, Tec et Doc, Paris - pp 484-540.

**[55] CHARPENTIER**, Guide de préparateur pharmacie, Ed, Masson, Paris France 1998 ; pp1068- 1071,1242,

**[56]** : **Buchanan B.B., Gruissem W. & Jones R.L., 2000.** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, MD. p: 1367.

**[57] : Salzer U.J., 1977.** The analysis of essential oils and extracts (oleoresins) from seasonings- a critical review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **9:** 345-373

**[58] : Tomi F., Bradesi P., Bighelli A. & Casanova J., 1995.** Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* **1:** 25-34

**[59]** : **Platzer N., 2002.** Application de la RMN à la détermination des structures. Base Documentaire, Techniques d'analyse, Dossier : P1092, vol. TA1.

**[60]** : **Lamarti A., Badoc A., Deffieux G., & Carde J .P., 1994.** Biogénèse des monoterpènes, Ilocalisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*. **133:** 69-78.

**[61] : Baser K.H.C. & Buchbauer G., 2010.** Handbook of essential oil: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis Group, LLC, Boca Raton, Forid, USA.

**[62]: Pibiri M.C., 2006.** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de Doctorat ès science. EPFL, Lausanne, Suisse

**[63] : Rahal S., 2004.** Chimie des produits naturels et des êtres vivants. Ed. O.P.U. p: 162.

**[64] : Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 4ème éd. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris.

**[65] : Belaiche P., 1979.** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Tome 1 : l'aromatogramme. Ed. Maloine, Paris

**[66] : Laouer H., 2004.** Inventaire de la flore médicinale utilisée dans les régions de Sétif, de Bejaia, de Msila et de Djelfa, composition et activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Ammoides pusilla* et de *Magydaris pastinacea*. Thèse de Doctorat d'état, Département de Biologie, Faculté des sciences, Université Farhat Abbes, Sétif, Algérie.

**[67]: Paris M. & Hurabielle M., 1981.** Abrégé de matière médicale (pharmacognosie) Tome 1: généralités, monographies. Ed. Masson, Paris.

**[68] : Teisseire P.J., 1991.** Chimie des substances odorantes. Ed. Tec & Doc, Lavoisier, Paris

**[69] : Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. et Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food Chem. Toxicol*. **46:** 446 475

**[70] : BOUANANE N, BOUSSEHEL N, 2005 :** contribution agroécologique aux essais d'introduction de la menthe poivré (menthe piperata L) dans la région de Ouargla en vue de l'utilisation des ses huiles essentielles en thérapie ; mém Ing.Univ. Ouargla - p22-23 ; 28

**[71]** : **Longevialle, 1981** ; constantiun 1996.

**[72] : Chaker El Kalamounni,** These sur : Caracterisation chimique et biologique

**[73] :** Etude des huiles essentielles d'espèces végétale de la flore laurentienne, **a**out 2008 p 19-20

**[74] : Madhavi et al., 1996**

**[75] : Alessandra Moro Buronzo,** grande guide des huiles essentielles santé beauté Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires.

**[76] : Bernard T., Periau F., Brav O., Delmas M., Gaset A., 1988.** Extraction des huiles.

**[77] : AFNOR, 1986**. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles », AFNOR. Paris.57 p.

**[78] : I.Huard, D**. **1999.** « les huiles essentielles et l'aromathérapie», éd.Québcot

**[79] : M.F.Muller, 2003** «Aromathérapie», éd. Anne la fay, FabienneVaslet, Hachette livre,.

**[80] : AFNOR 1982** ; (Association Française de Normalisation), Huiles Essentielles, Paris, , p. 330.

**[81] : J.F. Clevenger**, **1928;** Apparatus for volatile oil determination, Description of New Type *American Perfumer & Essential Oil Review*, , Octobre, 467-503

**[82] : BRUNETON J. 1993** Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 2ième éd. Tec. et Doc., Lavoisier, Paris, France..

**[83] : Paré J., 1997.** Procédé assisté par micro-ondes. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*. **4:** 4.

**[84] : France-Ida J., 1996.** Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*. **3:** 5-6.

**[85] : ALLAF K., 1989 :** Nouveau procédé de traitement par détente instantanée contrôlée de produits biologiques divers en vue de leur déshydratation. Recherche exploratoire.Abondement ANVAR – Gradient Publication de l'université de technologie de Compiègne N° SE/89/346. Rapport intermédiaire, décembre 1989.

**[86] : ALLAF K., LOUKA N., BOUVIER J.M., PARENT F. et FORGET J.M., 1994 :** Procédé de traitement de produits biologiques en vue de la modification de leur texture, installations pour la mise en oeuvre d'un tel procédé et produits ainsi réalisés, French patent n° 93/09728, 1993, International extension PCT FR 94/00975, 1994.

**[87] : REZZOUG S.A., LOUKA N., MAACHE-REZZOUG Z., NOUVIAIRE A. et ALLAF K., 1998 :** Présentation du séchage couple à la texturation par détente instantanée contrôlée. Application aux produits agro-alimentaires en morceaux 10ème, pp : 319 – 324. Rencontres scientifiques et technologiques des industries alimentaires, AGORAL, Ed. Lavoisier.

**[88] : REZZOUG S.A., BOUTEKEDJIRET C. et ALLAF K., 2005 :** Optimization of operating conditions of rosemary essential oil extraction by a fast controlled pressure drop process using response surface methodology. *J. Food Engin*. Vol. 71, pp : 9 – 17

**[89] : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées,** l'Institut National Espèces Faculté des Sciences de Rabat, espèces. Tome III, Paris 1948,803-810

**[90] : Baba-Moussa F., 1999**. Antifungal activités of seven west African Combretaceae used in traditional medicine. J ethnopharmacol ; 66 p : 335-338.

**[91] : Boysen et al., 2000 ; Hageskal et al., 2006.**

**[92] : Chaintreau A., Joulain D., Marin C., Schmidt CO., Vey M., 2003.** Quantification of fragrance compound suspected to cause skin reactions. *J Agric. Food. Chem*. 51 : 398-403

**[93] : CHEMAT F., TOMAO V. et VIROT M., 2008 :** Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In Handbook of Food Analysis Instruments by Semith ötles (pp. 85 – 103). Boca Raton, Florida, USA : CRC Press.

**[94] : SALISOVA M., TOMA S. et MASON T.J., 1997 :** Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from Salvia officinalis. Ultrasonics Sonochemistry, Vol. 4, pp : 131 – 134.

**[95] : VINATORU M., TOMA M., RADU O., FILIP P.I., LAZURCA D. et MASON T.J., 1997 :** The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials. Ultrasonics Sonochemistry, Vol. 4, pp : 135 – 139.

**[96] : VINATORU M., TOMA M. et MASON T.J., 1999 :** Ultrasound-assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. Adv. Sonochem., Vol. 5, pp : 209 – 247.

**[97] : VINATORU M., 2001 :** An overview of ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. Ultrasonics Sonochemistry, Vol. 8, pp : 303-313.

**[98] : CHEMAT S., LAGHA A., AIT AMAR H. et CHEMAT F., 2003 :** Ultrasound assisted microwave digestion. Ultrasoni. Sonochemi., Vol. 11, pp : 5-8.

**[99] : CHEMAT S., LAGHA A., AIT AMAR H., BARTELS P.V. et CHEMAT F., 2004a :** Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. Flavour and Fragrance Journal, Vol. 19, pp : 188 – 195.

**[100] : LUQUE DE CASTRO M.D. et FRIEGO-CAPOTE F., 2007 :** Ultrasound assistance to liquidliquid extraction : A debatable analytical tool. Analytica Chimica Acta, Vol. 583, pp : 2 – 9.

**[101] : MASON T.J. et CINTAS P., 2002 :** Sonochemistry, Chapitre 16, pp : 372 - 396 In CLARK J. et MACQUARRIE D., 2002 : Handbook of Green Chemistry and Technology. Editon Blackwell Science Ltd. 540 p.

**[102] : http://hitex-co2.com/pages/co2supercritique.php**
Description et illustration de l'extraction au CO2 supercritique. Copyright 2005 Societe Hitex. Tous droits reserves.

**[103] : AGKERMAN A., ERKEY C. OREJUELA M.** : Limiting diffusion coefficients of heavy molecular weight organic contaminants in supercritical carbon dioxide. Ind. Eng. Chem. Res., 1996, 35 (3), pp 911–917.

**[104] : Takao T., Kitatani F., Watanabe N., Yagi A. & Sakata K., 1994.** A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Bioch.* **58(10):** 1780-1783.

**[105] : Brand-Williams W., Cuvelier M. & Berset C., 1995.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci. Technol.* **28(1):** 25-30.

**[106] : Molyneux P., 2004.** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* **26(2):** 211-219.

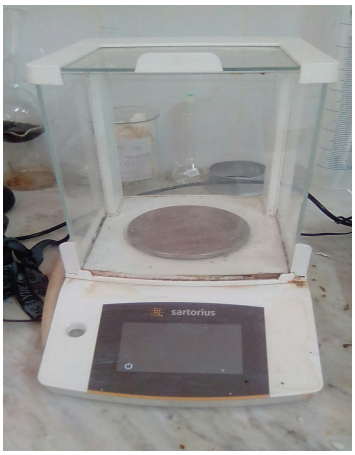
**[107] : Attou A., 2004.** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent. Thèse de Magister, université Tlemcen, Algérie.

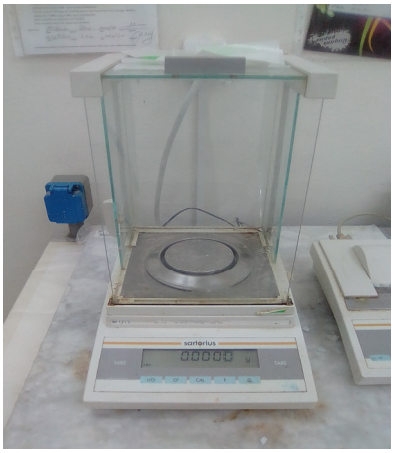
**[108] : Levy L., 1969**. Carrageenan paws edema in the mouse. Life science 8. pp601-606.

*Annexes*

# *Annexes*

**Appareillage :**




Balance analytique







Balance pour animaux

Vortex

Spectrophotomètre**(Thermo)**

**Verrerie et accessoires :**

Ballon 4l,

Bécher 50ml,

Cages individuelles,

Coton,

Crayon marqueur,

Cuve de qartz,

Entonnoir,

Éprouvettes,

Erlenmeyer de 250 ml,

Étiquette,

Fioles 25ml, 50ml ,100ml,

Flacon,

Gants,

Micropipette 500ml ,1000ml,

Papiers aluminium,

Papiers filtres,

Pince,

Pipettes graduées,

Portoir,

Seringue 1ml, 2,5ml,

Sonde de gavage spéciale aux souris de laboratoire,

Spatule métallique,

Tubes à essai stériles,

**Réactifs :**

Acide gallique

Dichlofénac

DPPH

Eau distillée

Éther

HEs essai

Méthanol 99%

NaCl

Suspension carragéenine à 1%.

Tween 80%

**Préparation des réactifs :**

**A: soltion carragéenine à 1%.**

1g de poudre de carragéenine diluée dans 100ml de l'eau distillé

**B: solution l'eau physiologique 0,9% :**

0,9g de poudre NaCl diluée dans 100 ml de l'eau distillé

**C: Solution dichlofénac de soduim :**

75mg de dichlofénac  diluée dans 750 ml l'eau physiologique 0,9%.

**D: Solutions de l'HE de deux doses** :

**Dose 1** : 30mg d'HE avec 2,5ml l'eau distillé, On ajoute quelque goutte de Tween 80 (pour faciliter la dispersion de l'HE dans l'eau distillée)

**Dose 2** : 20mg d'HE avec 2,5ml l'eau distillé, On ajoute quelque goutte de Tween 80 (pour faciliter la dispersion de l'HE dans l'eau distillée)