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 pharmaceutique

Par :

AKAL Abdenour

HAMIANE Yassine

Thème :

Analyse physico-chimique d'une plante médicinale Algérienne : *Mentha x piperita L.*

Soutenue publiquement le : 19 /06 /2019, Devant le jury composé de :

ARBIA wassila	MCA	UYFM	Présidente
CHAOUATI karima	MAA	UYFM	Examinatrice
BOUAZZA fatma	MAA	UYFM	Encadreur
TOUMI selma	Doctorante	UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire: 2018/2019

Remerciements

Avant tout, on remercie, Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Nous souhaitons remercier chaleureusement notre promotrice Mm. BOUAZZA FATMA, Maitre assistante classe B à l'université de Médéa, pour son aide très précieuse, le temps et l'attention qu'elle a consacrée pour le bon déroulement de ce travail.

Un grand merci à notre Co-promotrice Melle TOUMI SELMA Doctorante à l'université de Médéa pour son aide.

Nos sincères remerciements vont à Dr. ARBIA WASSILA, Maitre de Conférence classe A à l'université de Médéa pour avoir accepté de présider ce jury.

On adresse également nos remerciements à Mm. CHAOUATI KARIMA, Maitre assistance classe B à l'université de Médéa pour avoir accepté, d'examiner ce travail.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicase

Je dédie ce travail qui n'aura jamais pu voir le jour sans les soutiens indéfectibles et sans limite de mes chers parents qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui. Que dieux vous protège et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur.

Je dédie aussi ce travail à :

- Ma future femme.
- Mes grands-parents.
- Ma soeurs et ma famille.

Tous mes amis, mes collègues et tous ceux qui m'estiment.

HAMIANE YASSINE

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

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

Mes très chers frères : Ismail, Adel, et le petit abd el moumen.
Ma très chère sœur Amina.
Ma grande famille Akal. La famille Sayeh.

Notre promoteur Mm Bouazza. Tous mes camarades de la promotion 2018-2019 Chimie pharmaceutique, surtout à Yacine, Salah.
A mes amis Omar, Abd el raouf, et nouredinne. Et a tous mes enseignants qui m'ont enseigné durant mes années d'études.

Akal Abdenour

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلي إثبات أو نفي قدرة الزيوت الأساسية لنبات النعناع (تم قطفه من منطقة تابلاط بالمدية) علي قتل سوسة الحبوب من اجل إيجاد بدائل طبيعية للمبيدات الحشرية الكيمائية ،وفعاليتها علي عدة أنواع من البكتريا .

قمنا خلال هذه الدراسة باستخلاص الزيت الأساسي المستعمل باستخدام طريق التقطير .

تتمثل التجربة أساسا في معرفة مدي تأثير الزيت الأساسي علي الحشرة المدروسة باستعمال جرعات مختلفة، حيث قمنا بتجريب الزيت المستعمل علي حشرة سوسة الحبوب باستعمال ثلاث طرق: الاستنشاق، اللمس و الهضم
كما قمنا أيضا باستعمال تراكيز مختلفة علي عدة أنواع من البكتريا.
أثبتت النتائج المتحصل عليها علي فعالية كبيرة لزيت الأساسي حيث لاحظنا أن عدد الوفيات في التجارب كان كبير خاصة في التركيز الثالث.
الكلمات المفتاحية : النعناع ، الزيوت الأساسية، سوسة الحبوب .

Résume

L'objectif de cette étude était de prouver ou de nier la capacité d'huile essentielle de menthe poivrée de (Tablat a médéa) à tuer le charançon de blé afin de trouver des alternatives naturelles aux insecticides chimiques et leur efficacité sur plusieurs types de bactéries.

Au cours de cette étude, nous avons extrait l'huile essentielle en utilisant la méthode de hydrodistilation .

L'expérience principale est de déterminer l'effet de l'huile essentielle sur l'insecte considéré en utilisant différentes doses. Nous avons expérimenté l'huile essentielle sur la ***sitophilus granarius*** en utilisant trois méthodes : par inhalation, par contact et par ingestion.

Nous avons également utilisé différentes concentrations sur plusieurs types de bactéries. Les résultats obtenus ont montré une efficacité significative d'huile essentielle, où nous avons observé que le taux de mortalité dans les essais était significatif, surtout en concentration D3

Les mots clés : ***Mentha x piperata L***, huile essentielle, ***sitophilus granarius.***

Abstract

The aim of this study was to prove or deny the ability of essential oils of peppermint from(Tablat.médéa) to kill the wheat weevil in order to find natural alternatives to chemical insecticides and their effectiveness on several types of bacteria.
During this study, we extracted the essential oil using the following method:
The main experiment is to determine the effect of the essential oil on the subject insect using different doses. We experimented with the essential oil on the using ***sitophilus granarius.*** three methods: inhalation, touch and digestion.
We also used different concentrations on several types of bacteria.
The results obtained showed significant efficacy for essential oil, where we observed that the number of deaths in the trials was significant , especially in concentration three.

Key words: ***Menthe x piperita L***, Huiles essentielles, ***sitophilus granarius***.

Remerciement.

Résumé.

Sommaire.

Listes des figures.

Liste des tableaux.

Liste des abréviations

Introduction Générale……1

CHAPITRE I : LES PLANTES MEDICINALES

I.1. Introduction 3

I.2. Plante médicinale 3

I.2.1. Définition 3

I.2.2. L'usage des plantes médicinales 3

I.3. la plante de menthe 4

I.3.1. Historique 4

I.3.2. Définition 6

I.3.2 1. Caractéristiques 6

I.3.2.2. Les propriétés 6

I.3.3. Usages de la menthe 7

I.3.4. Usages médicinales de la plante 7

I.3.5. La menthe en automédication 7

I.3.6. Les autres usages de la menthe 8

I.3.7. Différentes variétés 8

I.3.8. *Mentha x piperita L* 8

I.3.8.1.Définition 9

I.3.8.2. Description 10

I.3.8.3. Systématique et synonymes 11

I.3.8.4. Composition chimique 11

I.3.8.5. Actions pharmacologiques 12

I.4. Les huiles essentielles 13

I.4.1. Définition d'huiles essentielles 13

I.4. 2. Composition chimique 14

I.4. 3. Propriétés des huiles essentielles 14
I.4. 3.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles 14
I.4. 3.2. Les Propriétés physiques 14
I.4. 3.3. Les Propriétés chimiques 14
I.4. 3.4. Les chémotypes des huiles essentielles 14
I.4.4.Huiles essentielles de la menthe 15
I.4. 4.1. La composition d'huile essentielle de *Mentha x piperita L* (menthe poivrée) 15
I.4. 4.2.Les chémotypes de la menthe 15

CHAPITRE I I : EXTRACTION D'HUILE ESSENTIELLE DE MENTHE

II. Les techniques d'extraction d'huiles essentielle 16
II. 1. Introduction 16
II.2.1. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle 16
II.2.2. L'hydrodistillation 16
II.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau 19
II.2.4. Extraction par micro-ondes 19
II.2.5. Extraction par CO_2 super critique 20
II.2.6.L'extraction par l'appareil de Soxhlet. 21
II.2.7. Détente instantanée contrôlée (DIC) 22
II.3. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles 23
II.3.1. Identification des constituants d'un mélange 23
II.3.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) 23
II.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) . 25
.3.4. La résonance magnétique nucléaire RMN 25

CHAPITRE III : GENERALITE SUR SITOPHILUS GRANARIUS

III.1. Introduction 26
III.2. Charançon du blé 26
III.3. Systématique. 26
III.4. Morphologie 27
III.5. Cycle de vie 27

III.6. Prévention 27
III.7. Un coléoptère qui se développe dans le blé 28
III.8. Développement de Charançon de blé. 28

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

IV. 1. Introduction 29
IV. 2. Matériel végétal 29
IV. 2. 1. Caractéristique générale 29
IV. 2.2. Récolte 29
IV. 2.3. Séchage 29
IV. 3. Matériel animales 30
IV.4. APPAREILLAGE ET PRODUITS 31
VI.4.1. Appareillage 31
IV.4.2. Produits chimiques utilisés 31
IV.4.3. Formule du Tween (80) 31
IV.5. METHODES 31
IV.5.1. L'hydrodistillation 31
IV.6. ETUDE SUR *SITOPHILUS GRANARIUS* 32
IV.6.1. Teste biologiques 32
IV.6.2.1. Effet les huiles essentielles de *Mentha x piperita L* 32
IV.6.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet inhalation. 32
IV.6.2.3 : Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet contact 35
IV.6.2.4 : Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet ingestion 37
IV.7 : Expression des résultats 39
IV .7.1. Détermination du taux de mortalité 39
IV.7. 2.Analyse statistique des résultats 39
IV.8. Etude de l'activité antibactérienne 40
IV.8.1. Protocole 40

CHAPITRE V: RESULTATS ET DISCUSSIONS

V.1. Rendement des huiles essentielles 43
V.2.Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles sur *Sitophilus granarius* 43
V.2.1. Evaluation de l'effet inhalation 43
V.2.2. Evaluation de l'effet insecticide de HE par ingestion 44
V.3.2. Evaluation de l'effet insecticide de HE par contact 45
V.4.Analyse statistique (analyse de variance) 46
V.5. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE 50
V.6. Activités insecticides 51
V.6.1.Traite ment par inhalation 51
V.6.2. Traite ment par contact 51
V.6.3.Traitement par ingestion 51
V.6.4.Activité antimicrobienne 52
Conclusion Générale 53

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 01	Une variété de plante de menthe.	**06**
Figure 02	***Mentha x piperita L***.	**09**
Figure 03	Les étapes de l'extraction des huiles essentielles.	**16**
Figure 04	L'extraction des huiles essentielles pare d'hydrodistillation.	**17**
Figure 05	Alambic traditionnel.	**18**
Figure 06	Appareillage de l'entrainement à la vapeur d'eau.	**19**
Figure 07	Montage d'extraction par micro-ondes.	**20**
Figure 08	Appareillage d'extraction avec fluide supercritique (co_2).	**21**
Figure 09	Les différents types d'extraction par solvants volatils.	**22**
Figure 10	Appareil de CPG avec ionisation de flamme.	**24**
Figure 11	La face dorsale de ***Sitophilus granarius***.	**27**
Figure 12	***Menthe x piperita L***. sécher (originale).	**30**
Figure 13	L'élevage en masse de charançon de blé (originale).	**30**
Figure 14	la face dorsale et ventrale de charançon du blé **(**Originale**).**	**30**
Figure 15	Hydrodistillation *(Clevenger)* (Originale).	**32**
Figure 16	Dispositif expérimentale résumer les étapes de test d'inhalation.	**34**
Figure 17	les différentes étapes de teste contacte par les huiles essentielles.	**36**
Figure 18	les différentes étapes de teste ingrstion par les huiles essentielle.	**38**
Figure 19	Le Taux de mortalités des adultes de ***Sitophilus granarius*** en fonction de temps par effet inhalation des huiles essentielles du ***mentha x piperita L.***	**44**
Figure 20	Taux de mortalités des adultes de ***Sitophilus granarius*** en fonction de temps par ingestion des huiles essentielles du ***mentha x piperita L***.	**45**
Figure 21	Taux de mortalités des adultes de ***Sitophilus granarius*** en fonction de temps par contact des huiles essentielles de ***mentha x peperita L***.	**46**
Figure 22	Activité insecticide des huiles essentielles de ***mentha x piperita.L*** en model G.L.M selon la dose, la méthode d'application.	**49**
Figure 23	Résultats de l'étude antibactérienne d'huile essentielle (***mentha x piperita L***.) sur les deux souches *CD* et *PM*.	**50**

Liste des tableaux

N° Tableaux	Titre	page
Tableau 01	Classification taxonomie de la ***Mentha x piperita L*** 1753	**09**
Tableau 02	Caractéristique générale de ***Mentha x piperita L***	**29**
Tableau 03	Appareillage utilisé pour l'extraction de la plante.	**31**
Tableau 04	Produitset réactifs chimiques utilisés la partie expérimentale.	**31**
Tableau 05	Les doses et le temps choisis pour le test d'inhalation.	**33**
Tableau 06	Les doses et le temps choisis pour le test contact.	**35**
Tableau 07	Les doses et le temps choisis pour le test ingestion.	**37**
Tableau 08	Classification du germe *Citobacter diversus*	**40**
Tableau 09	Classification du germe proteus mirabilis.	**40**
Tableau 10	Composition qualitative et quantitative du milieu Mueller Hinton.	**41**
Tableau 11	taux de mortalités (%) d'inhalation.	**43**
Tableau 12	taux de mortalités (%) contact.	**44**
Tableau 13	taux de mortalités (%) ingestion.	**45**
Tableau 14	**Tableau 14 :** Analyse de la variance de la mortalité d'huile essentielle vis-à-vis *Sitophilus granarius.*	**48**
Tableau 15	Résultats de l'activité antibactérienne pour les souches testées.	**50**

Liste des abréviations

CC : Chauffage classique.

CCM : Chromatographie sur Couche Mince.

C° : Degré Celsius.

CD: *Citobacter diversus.*

CLHP : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

CGP : Chromatographie en phase Gazeuse.

CMB: concentration minimale bactéricide.

CMI : concentration minimale inhibitrice.

CO2 : Dioxyde de carbone.

CPG/SM : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

D : dose.

DIC : Détente instantanée controlée.

FID : détecteur àionisation de flamme.

g/L : Gramme par litre.

h : houes.

HD : Hydrodistillation.

HE : huile essentielle.

IRTF: Infra-Rouge par Transformée de Fourier.

M. piperita : mentha x piperita L.

M C % : Pourcentage de mortalité corrigé.

M-H : Mueller Hinton.

ml : millilitre.

Mt : Pourcentage de mortalité dans le lot témoin .

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

m 1: masse de l'huiles essentielles en gramme.

m 2 : masse d'échantillon en gramme.

Na Cl : Chlorure de sodium.

Na_2SO_4 : Thiosulfate du sodium.

PM : Proteus mirabilis.

R: répétition.

R(%) : rendement en huiles essentielles exprimé en %.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

SM : Spectrométrie de masse.

UV: Ultra-violet.

µL : micro litre.

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son Environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [1].

Actuellement, les plantes aromatiques progressive des applications de leurs huiles essentielles dans les soins de découverte santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres très domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus forte sur les marchés mondiaux [2].

Il existe un grand nombre d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles, les différentes utilisations possibles et leur cout de production [3].

L'huile essentielle de la menthe poivré occupe à elle seule 6 place avec une production mondiale estimé à 2092 tonnes /an cette place est appelée à se promouvoir davantage, vu l'évolution positive de la demande mondiale de produits naturels au détriment de ceux de synthèse et vu aussi la diversité de leurs domaines d'applications [5].

Malgré la biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier la menthe poivrée, très fréquemment employées dans le pourtour méditerranéen. Ce travail est réparti en deux grandes parties:

- Une partie théorique qui inclue trois chapitres.
- Le premier chapitre description générale de la plante choisie : ***Mentha x piperita L***, en présentant leurs caractéristiques botaniques et leur composition chimique en mettant l'accent surtout sur le contenu en molécules bioactives, et présenterons une revue bibliographique sur les huiles essentielles et description général des huiles essentielles de ***Mentha x piperita L***
- Le deuxième chapitre : comptant les techniques d'extraction.
- Le troisième chapitre de ce mémoire est consacré à une description détaillée.
- Sur l'insecte utilisé dans l'étude est le Charançon du blé.

- La partie pratique est subdivisée en deux chapitres.

- Le premier chapitre

❖ méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail, à savoir:

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

- ✓ Effet les huiles essentielles de ***Mentha x piperita L*** utilisé trois méthodes :
    1) effet inhalation.
    2) effet contact.
    3) effet ingestion.
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne.
- Le deuxième chapitre :

  Consacré aux résultats et discussions

I.1. Introduction :

En Afrique de l'Ouest, comme dans le reste du continent, plus de 80 % de la population à recours à la médicine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire.

Le manque de médicaments essentiels, l'insuffisance des soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socioculturelles des populations expliquent le recours aux pratiques traditionnelles à base de plantes médicinales.

L'art de guérir par les plantes est connu et pratiqué en Afrique depuis bien longtemps, car il exploite des savoirs transmis oralement de génération en génération à certaines catégories d'individus initiés que sont les tradipraticiens de santé et les herboristes. Les plantes médicinales et les connaissances relatives aux plantes médicinales et aux médecines traditionnelles sont un patrimoine important du continent africain.

Et ces plantes, on ne les cherche pas, il y en a partout. Il suffit de tendre la main pour les cueillir. Aussi quel est notre étonnement toutes les fois que nous entendons dire: " Tel médicament manque ", alors que la plupart du temps, le remède dont l'absence est déplorée, est dans la cour du dispensaire ou de l'hôpital.

I.2. Plante médicinale :

I.2.1. Définition :

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc…) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie.

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

À noter qu'il a été observé chez des grands singes la consommation de certaines plantes à usage thérapeutique [6].

I.2.2. L'usage des plantes médicinales :

L'usage des plantes en médecine est très ancien. On a même découvert que les animaux sauvages utilisent instinctivement certaines plantes pour se soigner.

Aujourd'hui, pour que la médecine traditionnelle puisse porter ses fruits à une large échelle, et de manière encore plus efficace, il lui faut rencontrer la médecine dite «moderne**».** Les herbes ont été utilisées dans plusieurs domaines y compris la médecine, la nutrition, l'assaisonnement, la teinture, les cosmétiques, ainsi que dans d'autre domaines d'industrie.

Un certain nombre des plantes médicinales sont encore utilisées de nos jours sous forme de décoctions et d'infusion, mais la plupart d'entre elles ont été délaissées aux profits pharmaceutiques de synthèse. Cependant, les connaissances actuelles, permettent d'analyser ces plantes et souvent de comprendre l'activité préconisées par nos Certaines plantes sont utilisés comme traitement de rhume et de la fièvre,(*Marrubium vulgare* et *Rosmarinus officinalis*), trouble d'estomac (*Mentha spicata*) dans les traitements des maladies rénales (*Coriandrum saturom***)** et plusieurs d'entre elles sont utilisées pour leurs effets analgésique, antipyrétiques et anti inflammatoires.

Quelques espèces de *Helichrysum* ont été utilisées pendant 2000 ans passées comme forme de thé grâce à leurs effets régulateur de la bile et diurétique. En nutrition plusieurs espèces sont utilisées comme épice, colorant, boisson, ou encore pour leur effet aromatique**.** *Hippomaratram microcarpum* est utilisées ont nutrition par la population Turque [7].

I.3. la plante de menthe :

I.3.1. Historique :

La menthe est l'une des plantes médicinales les plus célèbres que l'on connait depuis le plus longtemps. On a retrouvé en effet des feuilles de menthe séchées vieilles d'environ 3000 ans dans les pyramides égyptiennes. Tandis que les Grecs et les Hébreux s'en parfumaient, les Romai ns en glissaient dans leur vin et leurs sauces. Au Moyen Âge, on découvre vraiment ses vertus thérapeutiques soit en calmants, antiseptiques ou encore en anesthésiques, puisqu'elle est prescrite aux personnes souffrantes pour anesthésier la douleur [8].

Le terme « menthe » est apparu dans la langue en 1275. Il vient du latin mentha, qui l'a emprunté au grec Minthê. La légende veut que ce fut, à l'origine, le nom de la menthe trouverait ses origines dans la mythologie grecque : Le dieu des enfers Hadès faisait la cour à Mintha, une nymphe du fleuve des enfers, seulement sa femme Perséphone, très jalouse, décida de transformer la belle nymphe en plante. Ne pouvant la ramener à sa forme humaine, Hadès lui donna son odeur si caractéristique [9].

Originaire d'Asie et de l'Europe médiévale, la menthe est un aromate connu pour sa prolifération rapide. Libérant un parfum très fort et agréable, elle embaumait les temples grecs et les demeures des Hébreux. Elle éloignait également les puces et assaisonnaient les mets.

La menthe, référencée dans la Bible, était achetée en grande quantité par les hébreux qui en faisaient leur passe-temps favori, au détriment des difficultés sociales et humanitaires soutenues par Jésus.

Ses atouts ne s'arrêtent pas là : riche en vitamine C, en fer et en manganèse, elle possède également des vertus antiseptiques notamment des voies respiratoires et se révèle également stimulante et anti -oxydante.

De nos jours, elle est fréquemment utilisée en inhalation pour combattre les rhumes et la toux, en infusion pour favoriser la digestion ou en bain de bouche à base de menthol (l'essence, qu'elle contient), pour rafraîchir l'haleine [10].

On retrouve un peu partout dans les jardins. Issue de la famille des labiacées, elle existe sous plus de mille variétés à travers le globe. Aussi connue sous des noms tels que sente bon, menthe pouliot ou encore menthe anglaise, elle est employée à différentes fins. Souvent utilisée dans la préparation de plats, la menthe est également considérée comme une plante aux vertus médicinales.

Renfermant tout son arôme, ses feuilles sont généralement les parties qui sont les plus utilisées.

Au Maghreb, la plante est employée pour la confection d´une boisson traditionnelle : le thé à la menthe. Sa préparation consiste en une infusion de thé vert et d´une poignée de feuilles de menthe.

La menthe poivrée est la plus utilisée en phytothérapie, pour ses propriétés, connues de la tradition et étudiées scientifiquement.

La menthe est cultivée en France surtout pour fournir l'industrie pharmaceutique, en particulier dans les régions de Milly-la-Forêt et de Chemillé, près d'Angers. Elle contient une forte quantité de menthol, à l'origine de la sensation de fraîcheur ou de froid (car stimulant les mêmes récepteurs que ceux qui dans la bouche sont sensibles au froid). La menthe poivrée contient aussi des terpènes. L'odeur est caractéristique de la saveur camphrée. L'essence de menthe verte est moins soutenue car elle est plus pauvre en menthol, remplacée par la carvone, principe actif du carvi. Par ailleurs, l'huile essentielle de menthe est très utilisée en aromathérapie (surtout la menthe poivrée), en phytothérapie et dans la médecine japonaise (surtout la menthe des champs). Elle ne doit pas être mise en contact avec les muqueuses tant qu'elle n'est pas diluée [11].

I.3.2. Définition :

La menthe est une plante aromatique aux multiples propriétés. Sur le plan médicinal elle révèle des capacités antidouleur, antiseptique ou digestive, tandis qu'en cuisine la menthe apporte une petite touche de fraîcheur à nos repas.

La menthe est une plante vivace, vivace du verbe vivre donc une herbacée qui vit longtemps en général supérieur à deux ans, qui produit plusieurs floraisons et qui résiste aux rigueurs de la mauvaise saison, que ce soit le gel de l'hiver ou la sècheresse des périodes de canicule [12].



Figure.1. Une variété de plante de menthe**.**

I.3.2 1. Caractéristiques :

La menthe est une Plante herbacée vivace de 10-50cm de haut, à tige droite quadrangulaire, feuilles pétiole, lancéolées, dentées, vertes. Fleurs mauves, roses ou blanches.

Odeur : Très fine, très aromatique.

Saveur : Chaude, piquante, acre, très aromatique, laissant dans la bouche une impression de fraicheur agréable.

Composants chimique : Menthol, Menthone, Menthène, Carvone, Pulégone, Limonene, Tanin...

I.3.2.2. Les propriétés :

La menthe, riche en vitamine C, en fer, en manganèse, a des vertus digestives, antiseptiques, stimulantes. Elle est conseillée pour les femmes enceintes, allaitantes, et les personnes présentant des troubles digestifs, ou sujets aux maux de ventre.

- De par sa forte teneur en antioxydants, elle contribue à limiter les risquesde maladies cardiovasculaires ainsi que celles liées au vieillissement.
- La menthe se révèle être un insecticide naturel efficace.
- Appliquée au niveau des ouvertures de votre habitation, elle devient une barrière contre les moustiques.

I.3.3. Usages de la menthe :

En générale une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie [13].

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

À noter qu'il a été observé chez des grands singes la consommation de certaines plantes à usage thérapeutique.

I.3.4. Usages médicinales de la plante :

La menthe est avant tout une plante bienfaitrice ayant un pouvoir positif sur la santé. D´après certaines sources, la menthe fut utilisée au Moyen Âge par de nombreuses personnes telles que les chirurgiens pour ses propriétés calmantes.

Mélangée à de l´opium, elle servait à apaiser les malades. Considérée comme une herbe aromatique, la menthe est, depuis toujours, un moyen efficace de lutter contre les troubles digestifs. En effet, idéale en infusion, elle permet de contrôler les problèmes gastriques et peut aider en cas d´indigestion. Stimulante et relaxante, elle peut aussi s´employer pour faciliter le sommeil et conduire à un état de relaxation.

Certaines recherches ont même montré que la plante aurait des propriétés antibactériennes. Ce qui explique pourquoi les arabes en mettent dans l´eau qu´ils boivent pour que celle-ci se conserve plus longtemps. Il est aussi possible de s´en servir en inhalation après avoir réalisé une décoction avec celle-ci. Ses caractéristiques rafraîchissantes seraient idéales pour les voies respiratoires et auraient des effets décongestionnants [14].

I.3.5. La menthe en automédication :

La menthe offre l´opportunité de lutter d´une façon naturelle contre divers maux sans effets secondaires. Très employée en phytothérapie, la menthe possède de nombreuses facultés anti-oxydantes et serait, selon des chercheurs, efficace contre le mauvais cholestérol. L´automédication n´est pas déconseillée car l´emploi des propriétés de la plante permet

d´obtenir de bons résultats sans aucun effet négatif majeur sur la santé. Néanmoins, il faut quand même éviter les abus car une prise trop conséquente en infusion peut entraîner des insomnies surtout si elle est consommée le soir. On peut confectionner soi -même de l´huile de massage avec de la menthe, elle s´avère idéale pour lutter contre les douleurs [15].

I.3.6. Les autres usages de la menthe :

Employée dans pratiquement toutes les cultures, la menthe est une plante aux saveurs et aux bienfaits multiples. Le menthol, essence contenue dans celle-ci, permet la réalisation de divers produits cosmétiques et alimentaires. Elle est aussi définie comme un excellent ingrédient en cuisine et permet de réaliser des recettes et des sauces fraîches remplies de saveurs. Elle peut aussi convenir à des préparations telles que la salade de fruits ou se marier à d´autres ingrédients pour former un dessert. Au-delà de sa consommation directe, la plante serait aussi efficace contre les insectes et permettrait plus particulièrement de lutter contre les moustiques responsables de la malaria. C´est ce qu´ont démontré quelques chercheurs indiens au cours d´une expérience réalisée sur des mares remplies de larves de ces moustiques.

I.3.7. Différentes variétés :

La menthe est l'une des plantes les plus renommées. Nous la connaissons généralement pour son odeur, ses qualités gustatives et ses bienfaits en phytothérapie. Comme d'autres plantes la menthe possède elle aussi de nombreuses variétés. Nous ne pouvons pas aborder toutes les variétés de menthe, je vous propose de nous attarder sur 4 d'entre elles, qui me semblent les plus intéressantes :

1 • *Mentha x piperita L.*

2 • *Menthe des champs* (Mentha arvensis).

3 • *Menthe pouliot* ou *Menthe 'Flio'* (Menthapulegium).

4 • *Menthe verte* (Menthaspicata).

I.3.8. *Mentha x piperita L* :

La menthe poivrée est la variété de menthe la plus répandue. En France elle est cultivée dans l'Essonne et le Mai ne et Loire, notamment pour l'industrie pharmaceutique. On la trouve généralement sur des terrains humides et frais, de nature argileuse et calcaire.

Selon les différentes sources, cette plante vivace mesurerait de 10 à 60 cm de haut. Ses tiges sont velues et violacées et ses feuilles ovales et dentelées prennent des teintes vertes foncées à bleu ou rouge. Ses fleurs sont roses, un peu violacés et regroupées en épis au sommet de la plante [16].



Figure 2:*Mentha x piperita L*

I.3.8.1.Définition :

La ***Mentha x piperita L*** est une plante herbacée de la famille des Lamiacées. C'est une menthe issue d'une hybridation spontanée, hexaploïde, entre la menthe aquatique et la menthe verte (Menthaaquatica et Menthaspicata), cultivée en Angleterre à partir du XVII^{e} siècle.

En raison de la saveur poivrée de ses feuilles, elle est assez peu utilisée en cuisine et réservée à un usage médicinal. Son huile essentielle est utilisée dans l'industrie alimentaire pour parfumer bonbons, dentifrices, chewing-gums, confiseries et boissons alcoolisées.

Tableau 01 : Classification taxonomie de la ***Mentha x piperita L*** 1753 :

Rang	Nom Scientifique
Division	**Magnoliophyta**
Règne	**Plante**
Classe	**Magnoliopsida**
Ordre	**Lamiales**
Famille	**Lamiaceae**
Genre	**Mentha**
Espèce	***Mentha x piperita***
nom binominal	***Mentha x piperita* L.1753**

I.3.8.2. Description :

La ***Mentha* × *piperita L*** est une plante herbacée, vivace à drageons, hémicryptophyte. Elle se dresse de 10 cm jusqu'à 75 cm, voire 1 m de hauteur.

Les tiges et les rameaux sont rougeâtres, à section carrée. Marie-Pierre Arvy, François Gallouin, Épices, aromates et condiments, Belin, 2003.

Les feuilles sont opposées et décussées. Ce sont des feuilles simples, pétiolées, 4 à 10 cm de long, velues et d'un vert foncé sur la face supérieure, se teignant de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre. Elles sont ovales-lancéolées à marge dentée. Elles sont recouvertes de poils sécréteurs à pied unicellulaire et à tête constituée d'une seule cellule ou de 8 cellules rayonnantes formant une tête renflée ovale, dans laquelle s'accumule.

La plante fleurit mais ne produit pas de graines. Les inflorescences sont des épis terminaux très raccourcis, comparables à des capitules. Les fleurs sont petites, violet pâle, presque régulières. Elles comportent un calice tubuleux, parcourus par de nombreuses nervures saillantes. Faiblement velu, il est terminé par 5 dents lancéolées et acuminées. La corolle est formée de 4 lobes presque égaux. La lèvre supérieure, émarginée, est issue de la soudure des 2 pétales dorsaux. La lèvre inférieur est formée par les 3 pétales ventraux. Les 4 étamines sont saillantes. Sur un disque nectarifère, reposent 2 carpelles.

La floraison s'effectue de juillet à septembre. Les fruits sont des tetrakènes. La plupart des graines avortent.

Trois variétés botaniques de *M.*× *piperita L*. sont reconnues:[17]

- var. piperita, menthe poivrée noire et pubescente (Black and hairy Peppermints)
  synonymes : M. nigricans Mill. 1768, M. odorata Salisb. 1798
- var. crispa (Benth.) W. Koch, menthe frisée (CurlyMint)
  synonyme : M. aquatica L. var. crispa (L.) Benth.
- var. officinalis Sole, menthe blanche (White Peppermint)
  synonyme : M. kahirina Forssk. 1775 ; les hybrides riches en linalol / acétate de linalyle appartiennent à cette variété.
- Les variétés horticoles les plus cultivées sont:

- menthe Mitcham, forme rubescens de la variété officinalis
- menthe blanche, forme palescens de la variété officinalis
- menthe de Hongrie, forme rubescens de la variété sylvestris

- menthe citronnée, menthe à odeur de citron, Menthacitrata (Ehrh.)
- autres variétés : menthe 'Chocolat' originaire de Norvège, 'Proserpine' originaire d'Autriche etc..

I.3.8.3.Systématique et synonymes :

Les études taxonomiques du genre Mentha ont produit depuis 1753 (marquant le début de la nomenclature moderne avec Linné) plus de 3 000 noms. Il est possible qu'environ 95 % de ces noms soient des synonymes ou des appellations illégitimes[4]. La systématique du genre est en effet, particulièrement difficile en raison de la facilité des hybridations, compliquée par le polymorphisme, la culture, la polyploïdie, et la propagation végétative.

Les études phylogénétiques contemporaines s'accordent sur l'existence de 18 espèces et 11 hybrides dénommés, répartis en quatre sections. La menthe poivrée est dans la section Mentha.

La menthe aune trentaine de synonymes bien établis :

- *Mentha ×adspersa Moench*
- *Mentha ×balsamea Willd.*
- *Mentha ×banatica Heinr.Braun*
- *Mentha ×braousiana Pérard*
- *Mentha ×citrata Ehrh.*
- *Mentha ×concinna Pérard*
- *Mentha ×crispula Wender*.

I.3.8.4.Composition chimique :

La feuille de menthe poivrée contient de nombreux métabolites secondaires aromatiques : des acides-phénols (jusqu'à 7 %), des flavonoïdes (glycosides de la lutéoline, de l'apigénine), des monoterpènes et des triterpènes. Le métabolisme des terpènes est fortement influencé par les facteurs environnementaux.

On extrait des feuilles une huile essentielle par distillation à la vapeur d'eau. Sa composition varie fortement avec les conditions climatiques, culturales et la date de la récolte. Elle est principalement constituéede.

- menthol : 30 à 40 %, parfois jusqu'à 64 %, pour une culture à basse altitude (300 m) à Jammu au nord de l'Inde.

- (-)- menthone de 15 à 25 % dans la menthe Mitcham, mais moitié moins dans le cas de la menthe blanche. Le menthone est issu d'une oxydation du menthol.
- acétate de menthyle, de l'état de trace jusqu'à une forte concentration de 30,2 % à haute altitude, dans le nord de l'Inde; il provient d'une estérification du menthol
- menthofurane, composé hépatotoxique, parfois absent mais pouvant atteindre 10 % pour la variété 'Chocolate' cultivée en Corée ; les étés à jours courts produisent de grandes quantités de ce composé. Une concentration faible de pulégone + menthofurane est nécessaire pour avoir une huile essentielle ayant une valeur commerciale. La (+)-pulégone, présente dans la jeune plante, disparaît rapidement.
- (+)-isomenthone, (+)-néomenthol, (-)-pipéritone, terpinène-4-ol, β-viridiflorol, etc.

Le profil chimique de l'huile essentielle évolue tout au cours de la croissance de la plante. Une analyse faite tous les 30 jours, après la transplantation des stolons, a montré que la concentration en menthone augmentait régulièrement jusqu'au 150^{e} jour (pour le cultivar 'Kukrail') alors que la concentration en menthol restait toujours élevée. La concentration en menthofurane croissait régulièrement jusqu'à 2,41 % à 150 jours puis montait à 4,99 % à 180 jours. Les auteurs de cette étude indienne, concluent que les cultivars de menthe poivrée doivent être récoltés après 150 jours.

Les esters mentholiques de (5 à 10 %) sont responsables de la flaveur mentholée et rafraîchissante de l'huile de menthe. Les feuilles de bonne qualité destinées à un usage pharmaceutique donnent de 10 à 30 ml d'huile essentielle par kg de feuilles sèches.

I.3.8.5. Actions pharmacologiques :

Malgré un usage traditionnel multimillénaire de la menthe, et les très nombreuses études in vitro, les études cliniques de ***M ×piperita L***. restent encore très limitées et n'ont guère exploré la pharmacologie de la drogue.

- **Capacité antioxydant**. obtenue par diverses méthodes. L'indice ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capa city) ou « capacité d'absorption des radicaux oxygénés » d'une solution aqueuse de feuilles de menthe poivrée est élevé, comme pour beaucoup d'aromates. L'indice FRAP de « capacité de réduction du plasma des ions ferriques en ions ferreux », situe encore les feuilles sèches de menthe poivrée entre la sauge et le thym mais dans l'ordre inverse.

La composition chimique étant très variable au cours des saisons, il en est de même de la capacité antioxydant.ont observé la fourchette 59 - 96 mol/g.

- **Activité antivirale et antibactérienne**. Des extraits aqueux de feuilles de menthe poivrée manifestent une activité antivirale contre les virus grippaux Influenza virus A, les virus de la maladie de Newcastle, le virus de l'herpès HSV. De nombreuses études ont établi l'activité antibactérienne de la menthe poivrée.
- **Activité anti tumorale**. Dans une étude portant sur 120 plantes comestibles, visant à tester leur aptitude à inhiber la promotion du cancer par l'acide okadaïque (AO), la menthe poivrée s'est retrouvée parmi les 8 plantes ayant une forte activité pour s'opposer à l'AO [18].

I.4. Les huiles essentielles :

L'huile essentielle est une substance odorante volatile qui est extraite des végétaux par une distillation à la vapeur d'eau.

Est un liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques (odoriférants) volatils d'une plante. Il est obtenu par extraction mécanique, entraînement à la vapeur d'eau ou distillation.

L'huile essentielle est de plus en plus souvent utilisée dans les cosmétiques. Elle possède de nombreuses propriétés qui permettraient de soigner toute sorte de troubles ou de désagréments grâce à leurs propriétés antibactériennes et antiseptiques [19].

I.4.1. Définition d'huiles essentielles :

Les huiles essentielles (HE) sont des substances odorantes et volatiles, extraites de plantes sous forme liquide. Contrairement à ce que ce nom indique, il n'y aucun corps gras dans les huiles essentielles. Elles proviennent d'une sécrétion naturelle élaborée par certains végétaux pour se protéger des insectes et des maladies, mais aussi pour éliminer les substances issues de leur métabolisme.

L'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [20].

I.4. 2. Composition chimique :

C'est un mélange de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques), c'est-à-dire dérivés de l'isoprène et non du benzène, et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, ester) [21].

I.4. 3. Propriétés des huiles essentielles :

I.4. 3.1. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînables à la vapeur d'eau. Elles sont aussi très odorantes et incolore ou jaune pâle sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée [22].

I.4. 3.2. Les Propriétés physiques :

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche elles le sont dans les solvants organiques et huiles végétales. Leurs densités sont inférieures à « 1 » sauf les huiles essentielles de cannelle, girofle, sassafras et ail. Elles sont sensibles à l'oxydation, conservation limitée, à la lumière et à la chaleur. Les huiles essentielles ont des indices de réfractions élevés et des pouvoirs rotatoires [23].

I.4. 3.3. Les Propriétés chimiques :

Les caractéristiques chimiques des huiles essentielles sont magiques. Il en résulte que les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses, aboutissements de ces biosynthèses, en particulier celle des isoprénoïdes (Monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, caroténoïdes) [24].

I.4. 3.4. Les chémotypes des huiles essentielles :

Le chémotype d'une huile essentielle est une référence précise qui indique le composant biochimique majoritaire ou distinctif, présent dans l'huile essentielle.

C'est l'élément qui permet de distinguer une huile essentielle extraite d'une même variété botanique mais d'une composition biochimique différente [25].

I.4.4.Huiles essentielles de la menthe :

I.4. 4.1. La composition d'huile essentielle de *Mentha x piperita L* (menthe poivrée) :

La plus utilisée en aromathérapie, contient :

- 30 à 50% de menthol,
- 15 à 25% de menthone (ou cétone du menthol),
- ainsi que des fractions variables de pulégone, néomenthol, pipéritone [26].

I.4. 4.2.Les chémotypes de la mentha x *piperita L* :

- **Monoterpénols**: Menthol (32.90%); Néomenthol (3.20%); Terpinène-4-ol (0.96%); Néoisomenthol (0.44%); trans-thuyanol (0.34%); Linalol (0.17%)
- **Cétones**: Menthone (27.07%); Isomenthone (4.19%); Pulegone (1.94%)
- **Oxydes**: 1,8-cinéole (4.96%).
- **Esters**: Acétate de menthyle (4.70%); Acétate de néomenthyle (0.34%); Acétate d'isomenthyle (0.24%).
- **Monoterpènes**: Limonène (2.75%); β-pinène (1.20%); α-pinène (0.84%); Sabinène (0.53%); γ-terpinène (0.40%); p-cymène (0.30%).
- **Sesquiterpènes**: β-caryophyllène (1.80%)

Les pourcentages pouvant varier légèrement d'un lot à l'autre, sont donnés à titre indicatif.

II. Les techniques d'extraction d'huiles essentielle :

II. 1. Introduction :

Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte des caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante.

Basée sur différents phénomènes physiques : la distillation, l'extraction ou la séparation, ces techniques seront présentées selon le principe sur lequel elles sont basées [27].

II.2.1. Les étapes de l'obtention d'une huile essentielle :

Les étapes de l'extraction des huiles essentielles d'origines végétales restent identiques quelque soit le « type » d'extraction utilisé. Il est nécessaire dans un premier temps d'extraire de la matière végétale les molécules aromatiques constituant l'huile essentielle, puis dans un second temps de séparer ces molécules du milieu par distillation, comme il est représenté dans la (**Figure 03**) [27].

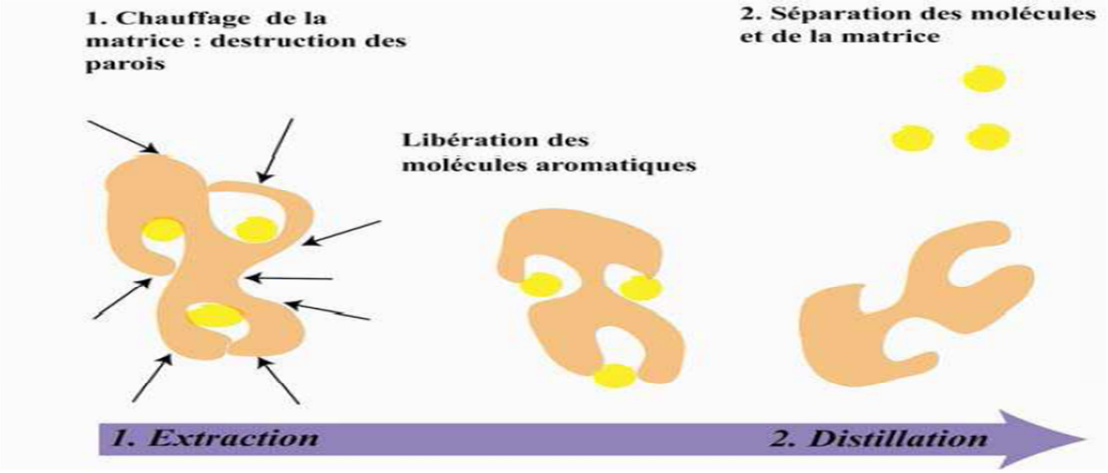


Figure 03: Les étapes de l'extraction des huiles essentielles [27].

II.2.2. L'hydrodistillation :

Mot composé de hydro- en grec « eau » et de -distillation qui vient du latin *stilla*, « goutte » et de *distillare* (latin savant), « tomber goutte à goutte ». Ce procédé d'extraction date de l'époque de la révolution industrielle (au XIXe siècle).

Dans ce cas, le matériel végétal est en contact direct avec l'eau (**Figure 4**). Le procédé consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter (intact ou éventuellement broyé) dans un récipient rempli d'eau qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité[28].

Parfois un additif ionique est ajouté, il s'agit souvent de NaCl qui permet d'augmenter la force ionique de l'eau et donc d'obtenir un meilleur rendement en huile essentielle [29].

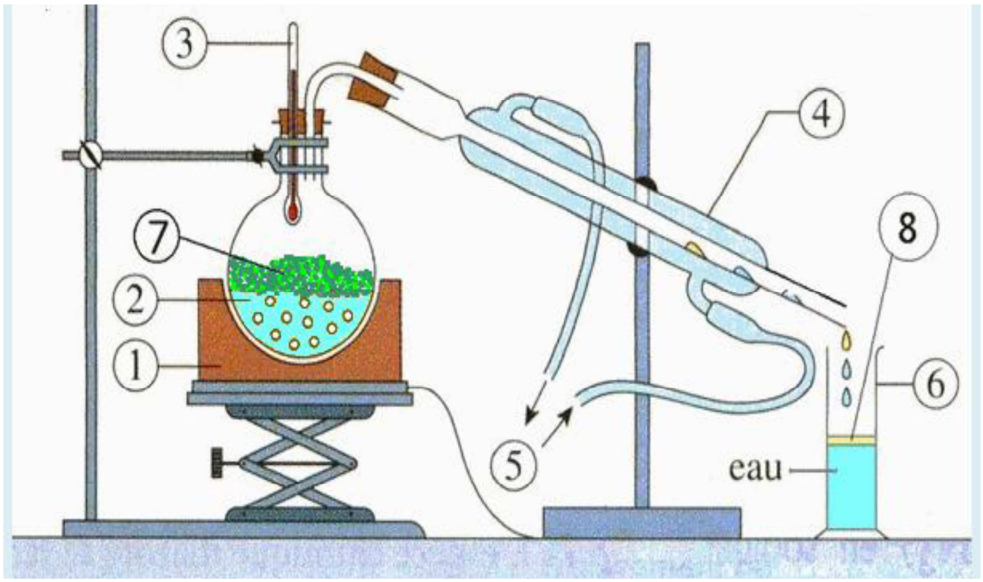


Figure 04: L'extraction des huiles essentielles pare d 'hydrodistillation [30].

Légende :

(1) Chauffe-ballon ; (2) eau en ébullition ; (3) 3-thermomètre ; (4) réfrigérant à eau (5) arrivée et sortie d'eau ; (6) éprouvette graduée ; (7) matériel végétal ; (8) huile essentiel ou essence.

L'alambic traditionnel utilisé dans les ateliers artisanaux et les ménages (**Figure 05**) a pour inconvenient la non métrise de la température du récipient contenant le mélange (eau matériel végétal), ce qui peut modifier la couleur, l'odeur et/ou la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation [31].



Figure 05 : Alambic traditionnel [30].

Remarques :

Cette technique est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants.

Lors de la distillation des huiles essentielles plusieurs phénomènes sont à la base d'échange de matière entre les phases solide, liquide et vapeur, d'où l'influence d'un grand nombre de paramètres sur la qualité et le rendement de l'huile essentielle [32].

La durée de distillation est un outil intéressant pour obtenir une composition souhaitée d'huile essentielle [31] ; La durée d'extraction optimale est celle qui correspond à la durée minimale permettant d'extraire toutes les fractions, c'est-à-dire une durée qui se termine dès que la rentabilité de l'extraction commence à diminuer.

Les expérimentations montrent que la durée de distillation est plus longue pour les organes de plantes ligneuses que pour les herbacées. Cette différence est fortement liée à la localisation des structures d'élaboration ou de stockage des huiles essentielles pouvant être superficielles ou internes [33].

II.2.3. Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique :

L'huile essentielle". L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [27].

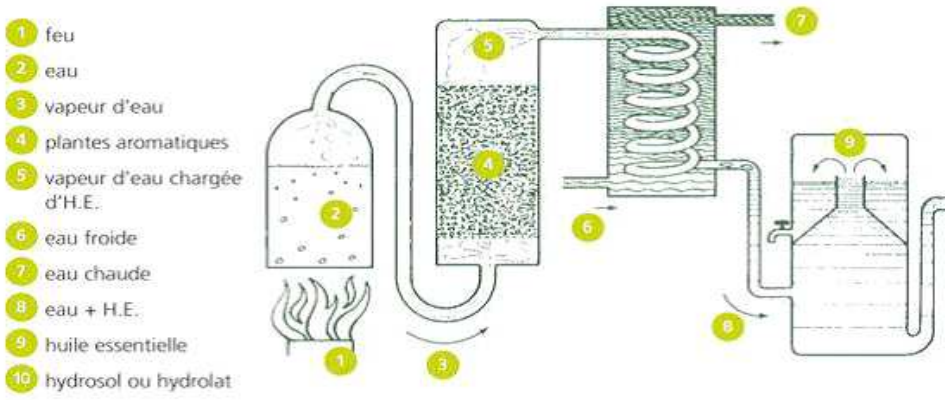


Figure 06 : Appareillage de l'entrainement à la vapeur d'eau.

II.2.4. Extraction par micro-ondes :

Gonzler, Gedye et d'autres en 1986, furent les premiers à présenter une technique d'extraction par micro-ondes en vue d'une analyse chromatographique. [**34]**

Ce procédé consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale broyée ou non au préalable en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes (le méthanol) pour l'extraction de composés polaires ou bien en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes (hexane) pour l'extraction de composés apolaires.

L'ensemble était chauffé sans jamais atteindre l'ébullition durant de courtes périodes entrecoupées par des étapes de refroidissement. Après, une étape de séparation par centrifugation, les échantillons étaient directement injectés sur colonne chromatographique. Golmakani et al Ont mis en évidence les avantages de l'hydro distillation assistée par micro-onde du *Thymus vulgaris* L : un temps d'extraction plus court (75 min contre 4h pour HD); un rendement amélioré (2.44% contre 2.39% pour HD) et un impact environnemental moindre [35]. **(Figure 07)**

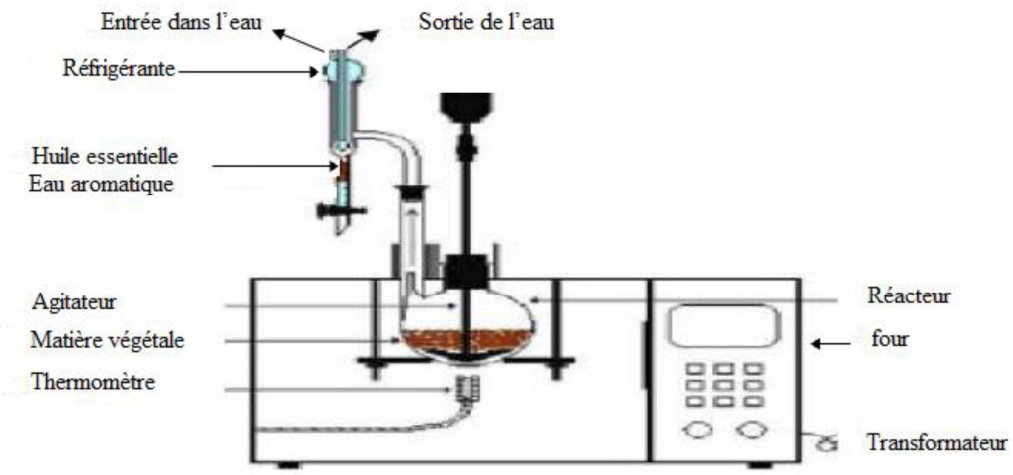


Figure 07: Montage d'extraction par micro-ondes. **[36]**

II.2.5. Extraction par CO_2 super critique :

L'appareil permet d'émettre en contact le matériel végétal et le CO_2 et de varier les conditions de Le CO_2 est le fluide le plus employé pour l'extraction de matières premières aromatiques. Température et de pression pour que ce fluide agisse tantôt comme un gaz (viscosité, diffusion), tantôt comme un liquide (densité, pouvoir de solubilisation). Les composés solubles seront alors extraits et séparés (**Figure 08**). On ajuste donc ces paramètres selon la nature des produits que l'on veut extraire, ce qui nous permet d'être très sélectif et d'obtenir les différents constituants de manière séquentielle. Précisons que cette technologie est celle qui altère le moins l'extrait végétal .Les avantages de ce procédé sont les suivants :

Le CO_2 est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et de bon marché, On utilise des basses températures pour la mise en œuvre.

En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO_2 à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale et peu coûteuse.

Les frais de fonctionnement, à l'échelle pilote ou de laboratoire, sont réduits (le CO_2 est continuellement recyclé).

L'extraction au CO_2 supercritique est une technique intéressante qui apporte de nouvelles notes olfactives (méthode d'extraction plus complète et moins dégradante que la vapeur d'eau). Cependant son installation industrielle reste coûteuse et l'appareillage est encore envahissant [37].

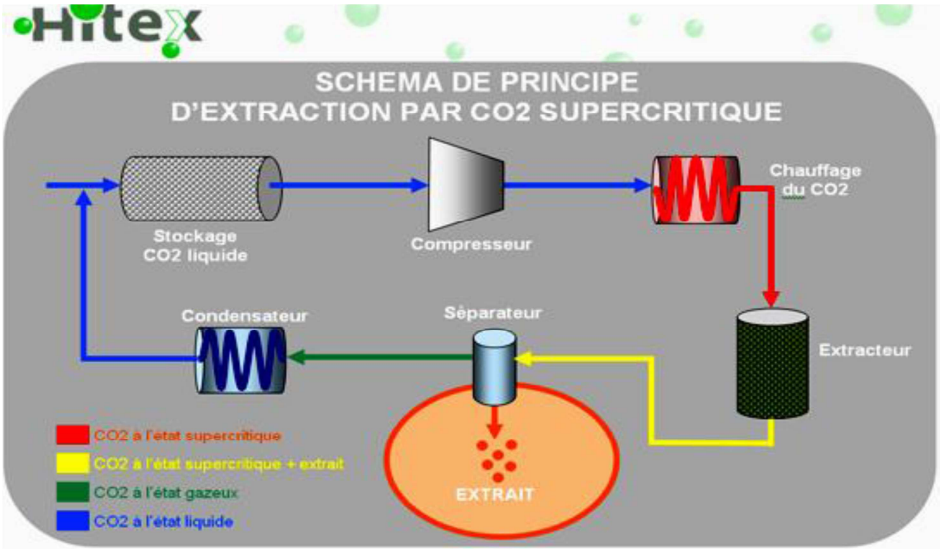


Figure 08: Appareillage d'extraction avec fluide supercritique (CO_2).

II.2.6.L'extraction par l'appareil de Soxhlet:

Il s'agit d'une extraction solide-liquide réalisée dans un appareil qui porte le nom de son inventeur : Franz von Soxhlet. Cet extracteur est constitué d'un corps en verre dans lequel est placée une cartouche poreuse en cellulose, d'un tube siphon et d'un tube d'adduction. Le montage se compose d'un ballon contenant le solvant d'extraction, surmonté d'un extracteur dans lequel est insérée la cartouche contenant la matière solide végétale, généralement sous forme de poudre. Un réfrigérant, qui joue le rôle de reflux, est adapté au-dessus de l'extracteur. Dans le ballon, le solvant est maintenu en ébullition constante, grâce à un chauffe-ballon avec agitation magnétique intégrée, afin d'éviter des à-coups d'ébullition qui provoquent une remontée du liquide contenu dans le ballon et non de vapeurs pures de solvant. Quand le ballon est chauffé, celles-ci passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant (chauffé par les vapeurs se trouvant en dessous). Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube-siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extraites. Le cycle peut alors recommencer et le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles.

Cette technique est loin d'être exclusive aux molécules aromatiques d'origine végétale [38]. Elle est fréquemment utilisée pour l'extraction de lipides [39], ou de divers autres catégories de molécules. De plus, cette technique d'extraction a été récemment combinée aux micro-ondes et aux ultra-sons [40].

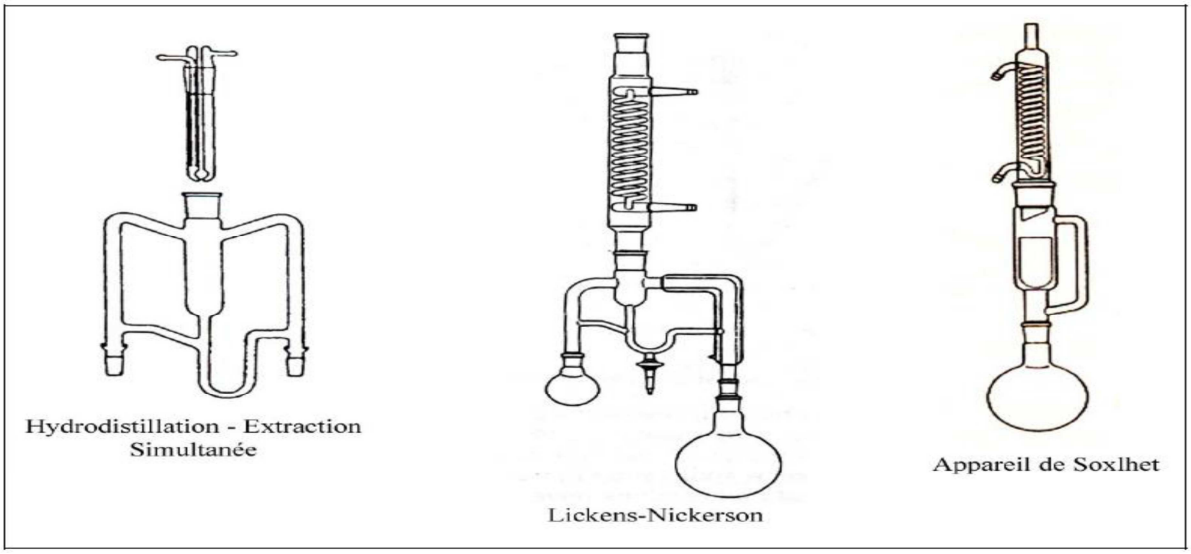


Figure 09 : Les différents types d'extraction par solvants volatils. [41]

II.2.7. Détente instantanée contrôlée (DIC) :

Cette méthode d'extraction est née des études théoriques menées par le Professeur Allaf (1989) 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… [42].

Des brevets ont été déposés et de nombreux travaux ont mise en œuvre cette innovation technologique. Son l'utilisation s'est avérée efficace et présente un large spectre de potentialités dans de nombreux domaines d'activités. On citera notamment ses applications pour la préservation du bois archéologique. l'étuvage du blé, le séchage, la débactérisation , la texturation l'amélioration de l'extraction entre autres des produits lourds tels que les flavonoïdes [43]; des composés volatils à partir de la matière végétale et ce pour divers organes tels que les grains [44], les fleurs le bois les feuilles ou les zestes des agrumes [45].

II.3. Les méthodes d'analyse des huiles essentielles :

II.3.1. Identification des constituants d'un mélange :

De manière schématique, deux démarches analytiques se distinguent en fonction de l'objectif recherche. La première est l'analyse structurale qui consiste a élucidé la structure d'une molécule qui n'a encore jamais être décrite dans la littérature. La seconde est d'identifier et de quantifier un produit déjà connu et dont les caractéristiques spectrales sont répertoriées. ***L'analyse structurale :*** L'analyse structurale nécessite la purification préalable du compose par des distillations fractionnées ou par différentes techniques chromatographiques (CCM, CC, CLHP, CGP) permettant d'obtenir une quantité suffisante de produit pur afin de réaliser une étude spectroscopique complète par Spectrométrie de masse (SM), Infra-Rouge par Transformée de Fourier (IRTF), Ultra-violet (UV) et Résonance Magnétique Nucléaire (RMN-1H et RMN-13C, RMN bidimensionnelle) [46], A partir de la combinaison de ces méthodes complémentaires, il est possible d'établir avec une certitude suffisante la structure de la molécule du constituant inconnu.

II.3.2. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) :

La CPG est une méthode d'analyse par séparation qui s'applique aux composes gazeux ou susceptibles d'être vaporises par chauffage sans décomposition [47]. C'est la technique de séparation la plus utilisée dans le domaine des huiles essentielles, car elle permet d'effectuer l'individualisation des constituants a partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Les progrès technologiques réalises dans le domaine des colonnes capillaires, des phases stationnaires et des détecteurs (FID) ont contribue a rendre la CPG incontournable pour l'analyse des huiles essentielles. Chaque constituant est caractérisé par des indices calcules a partir d'une gamme d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, a température constante (indice de Kováts) [48] ; ou en programmation de température (indices de rétention) [49] Les temps de rétention, bien que spécifiques d'un compose, ont tendance à varier d'une analyse a l'autre, notamment du fait du vieillissement des colonnes. Les indices de rétention polaire (Ir p) et apolaire (Ir a) sont comparés à ceux d'échantillons authentiques contenus dans des bibliothèques de référence élaborées au laboratoire, dans des bibliothèques commerciales [50], ou répertoriés dans la littérature. Cependant, une reproductibilité parfaite des indices de rétention est difficile à obtenir et ne peut être observée que sur des chromatogrammes réalisés sur une période courte avec des conditions expérimentales rigoureusement identiques. Les variations les plus importantes sont observées lorsqu'on compare les indices de rétention obtenus au laboratoire avec ceux de la littérature,

particulièrement pour ce qui concerne la colonne polaire [51]. Dans le domaine des huiles essentielles, il a été montré que 230 sesquiterpènes de même masse moléculaire présentent des indices de rétention compris dans un intervalle de seulement 300 unités (49). Il s'ensuit une grande incertitude dans l'identification des constituants. De plus, les nombreux cas de coélution montrent que la comparaison des indices de rétention et même la méthode des surcharges ne suffisent pas à identifier formellement un composé. Le développement des phases stationnaires chirales (colonne de cyclodextrines) et de la CPG multidimensionnelle a permis de surmonter certaines difficultés rencontrées dans la séparation et l'identification des composés dans les huiles essentielles [52]. Ainsi, la CPG bidimensionnelle (CPG/CPG), mettant en ligne deux colonnes capillaires, permet la séparation, l'identification et la quantification de composés minoritaires pouvant coéluer avec des composés plusabondants. L'échantillon est injecte dans une pré-colonne, puis les composés qui coeluent sont transfères dans une deuxième colonne pour être sépares.

L'efficacité de cette méthode est illustrée par Marriott et coll. [53] qui ont appliqué la CPG bidimensionnelle à l'étude d'une huile essentielle de vétiver (*Vetiveria zizanioides*). L'utilisation de colonnes chirales en CPG bidimensionnelle permet l'analyseenantiomerique des constituants d'un mélange complexe. Dans de nombreux cas, la détermination de la distribution énantiomérique est utilisée pour la détection d'adultérations dans les aromes [54], [55]. Enfin, la GPG/CPG chirale a être utilisée par könig et coll [56]. pour identifier le (-)-d-amorphène dans une huile essentielle de vétiver.

Les techniques de couplage de la CPG avec des techniques spectroscopiques (SM, IRTF) ont permis une approche beaucoup plus précise de l'identification (**Figure 10**).

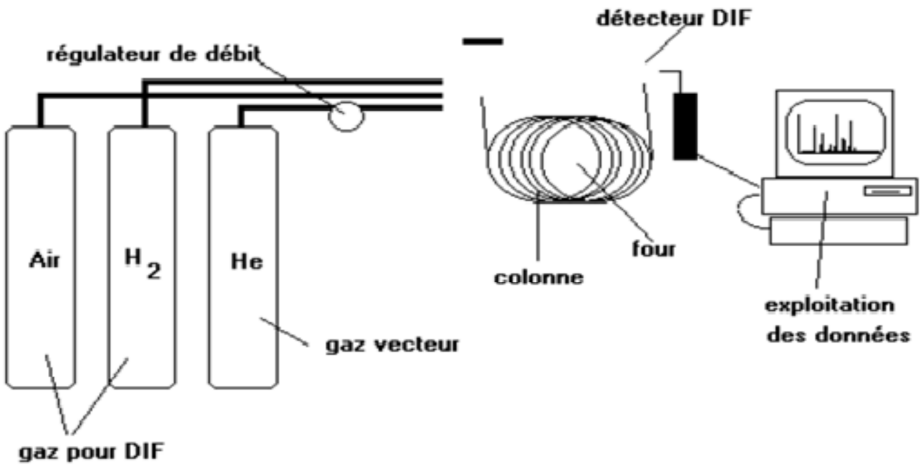


Figure10: Appareil de CPG avec ionisation de flamme.

II.3.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) :

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

D'un point de vue analytique, d'important progrès ont été réalisés en couplant la CPG avec un spectromètre de masse (SM). En effet, le couplage CPG/SM en mode impact électronique (IE), dit CPG/SM-(IE), est la technique utilisée en routine pour l'analyse dans le domaine des huiles essentielles. Le principe de la spectrométrie de masse consiste à bombarder à l'aide d'électrons une molécule qui sera fragmentée ; les différents fragments obtenus, chargés positivement constituent le spectre de masse de la molécule. Cette technique permet d'identifier un composé en comparant son spectre à ceux contenus dans des bibliothèques de spectres informatisées ou sous format papier construites au laboratoire ou commerciales [57].

II.3.4. La résonance magnétique nucléaire RMN :

La RMN permet de sonder la structure moléculaire en faisant interagir l'aimantation naturelle des noyaux avec un champ magnétique. En RMN, l'interaction entre le noyau atomique et le champ magnétique est quantifiée et seule une fréquence particulière (appelée fréquence de Larmor) permet cette interaction. Cette fréquence dépend du type de noyau observé (proton, carbone, azote, etc.), mais aussi de l'environnement chimique de ce noyau, c'est-à-dire des autres noyaux présents autour, et des électrons impliqués dans la liaison chimique. La fréquence de résonance permet donc de remonter à la structure de la molécule.

La résonance magnétique nucléaire est un outil exceptionnel pour déterminer la structure d'une molécule naturelle ou synthétique. Grâce à la diversité des paramètres mesurables, elle permet d'aborder l'ensemble des problèmes posés par l'examen d'une molécule en solution. L'originalité de la RMN par rapport aux autres techniques spectroscopiques réside dans le fait d'apporter une information précise et individuelle sur la très grande majorité des atomes constitutifs de la molécule, de fournir la possibilité d'identifier les connexions entre atomes des diverses entités, squelette, groupes fonctionnels et finalement de permettre de les situer dans l'espace les uns par rapport aux autres. La stratégie présentée pour la détermination de structure par RMN est très efficace pour les molécules de dimension moyenne. Les méthodes de base de la RMN monodimensionnelle et bidimensionnelle sont le plus souvent suffisantes pour atteindre l'objectif fixé [58].

III.1. Introduction :

Les charançons, malgré leur joli nom, causent de graves dommages aux cultures. Au total, il y a environ 50 000 espèces et il est parfois difficile pour une personne inexpérimentée d'identifier chacune d'entre elles. Une place distincte dans la famille est occupée par le charançon du blé. Sa patrie historique est l'Inde, d'où elle s'est répandue dans le monde entier. Dans certains pays, l'organisme nuisible est un objet de quarantaine. [59]

III.2. Charançon du blé :

Ce coléoptère est un ravageur nuisible car les œufs sont pondus dans les graines des céréales et bien entendu, plus particulièrement dans le blé, d'où son nom « charançon du blé ». Les larves créent de nombreux dégâts dans les cultures pouvant provoquer des famines dans certains pays. On trouve donc ces insectes dans les silos, les garde-manger et les paquets alimentaires et il faut agir vite pour ne pas être envahi… [60]

III.3. Systématique:

- Ordre : Coléoptère.
- Famille : Dryophthoridae.
- Nom scientifique : *Sitophilus granarius*.
- Espèce semblable : *Sitophilus zeamais* (distinguable seulement par les pièces génitales du mâle) Occasionne parfois des infestations conjointes avec *Sitophilus granarius* .
- Alimentation : graine, pâte, blé , céréale, farine, légumineuse…
- Habitat : placards de cuisine, silos à grains, cultures, magasin d'alimentation, boulangerie…
- Spécificités : le charançon est reconnaissable à ses 4 taches rougeâtres ce qui permet de le distinguer des autres insectes granivores tels que mites alimentaires, Cucujide des grains [60].



Figure 11 : La face dorsale de *Sitophilus granarius*.

III.4. Morphologie :

- Longueur de l'adulte : de 2,5 à 4,6 mm.
- Description : Les élytres arborent 4 taches variant du rougeâtre au jaune. Le charançon possède un rostre long et une paire d'antennes coudées.
- Couleur : brun rouge à brun foncé.
- La larve : blanche et apode (sans pieds) [63].

III.5. Cycle de vie :

- Reproduction : une femelle pond de 100 à 400 œufs dans sa vie (elle pond environ 4 œufs par jour).
- Durée de vie de l'adulte : 4 à 5 mois.
- Cycle : 5 à 14 semaines selon les conditions.
- Condition de développement optimale : 25 à 35°C et humidité de 70 %.
- Ses prédateurs : araignée, oiseaux, guêpes parasites, acariens, coléoptères Histérides du genre Carcinops.
- **III.6. Prévention :**

- Enfermer les aliments dans des bocaux hermétiques.
- Sortez vos placards de cuisine au frais si possible car les charançons craignent le froid.
- Faites bouillir les produits infestés pour faire remonter les larves et les tuer.
- Nettoyer vos placards, passer l'aspirateur et fermer vos sacs poubelle afin d'éviter la contagion des larves.

- Colmater les fissures des murs et des plinthes tout autour du garde-manger.
- Supprimer l'humidité qui favorise le développement des larves.

III.7. Un coléoptère qui se développe dans le blé :

Ce petit insecte ne dépasse pas les 2 à 3 mm de longueur. Il est d'un brun assez foncé. Il possède un long rostre (le rostre étant le nom donné aux pièces buccales de certains insectes) et une paire d'antennes pliée en forme de coude.

Les quatre taches rougeâtres présentes sur ses élytres caractérisent bien le charançon du blé. Il est donc facilement reconnaissable grâce à ce petit détail.

III.8. Développement de Charançon de blé:

Les larves grandissent dans les grains. Leur couleur est blanche et leur forme ressemble à un C.Il leur faut une température de 27 à 31 °C pour que leur développement soit optimal. Leur cycle évolutif se déroule en cinq à huit semaines. Plus l'humidité du milieu ambiant est importante, plus vigoureuse sera la croissance des larves de charançon du blé. Dans des conditions optimales, (température de 30 °C et humidité relative de 70 %), les larves atteignent leur maturité en 25 jours. En temps normal, les charançons se développent dans les pays tropicaux. C'est sous ces latitudes que se trouvent les meilleures conditions de vie pour cet insecte. Mais le blé, comme maintes marchandises, voyage autour du monde et ces transports internationaux l'ont répandu jusqu'à nos entrepôts. Les charançons ont ainsi colonisé certaines régions tempérées dont fait partie le Québec.

IV. 1. Introduction :

L'objectif de ce travail est la détermination des Evaluation de la toxicité des huiles essentielles ***Mentha x piperita L*** sur charançons de blé et l'activité antibactérienne l'extrait d'huile essentielle de la ***Mentha x piperita L.*** de l'utilisation dans la lutte biologique et l'activité antibactérienne.

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire à l'ENS (El kouba)

Le laboratoire s'occupe de l'extraction, d'huile huiles essentielles et extraits végétaux des plantes aromatiques.

IV. 2. Matériel végétal :

IV. 2. 1. Caractéristique générale :

Tableau 02 : Caractéristique générale de ***Mentha x piperita L :***

Produit	***Menthe x piperita L***
Origine	**Tablat (Médéa)**
Nature	**Huile essentielle 100 % pure et naturelle**
Nom botanique	***Mentha x piperita L***
Méthode d'extraction	**hydrodistillation (Clevenger)**
Odeur	**herbacée, fraîche, mentholée**

IV. 2.2. Récolte :

La récolte de la plante (***Mentha x pepireta L***) a été réalisée dans différentes régions (tablat. Médéa) dans le Sud Est Algérien, durant la période allant du mois mars 2019 jusqu'au mois de mai.

IV. 2.3. Séchage :

La plante fraîchement récoltée, est lavée et laissée séchée à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière et cela pendant 15 jours (Figure 12).

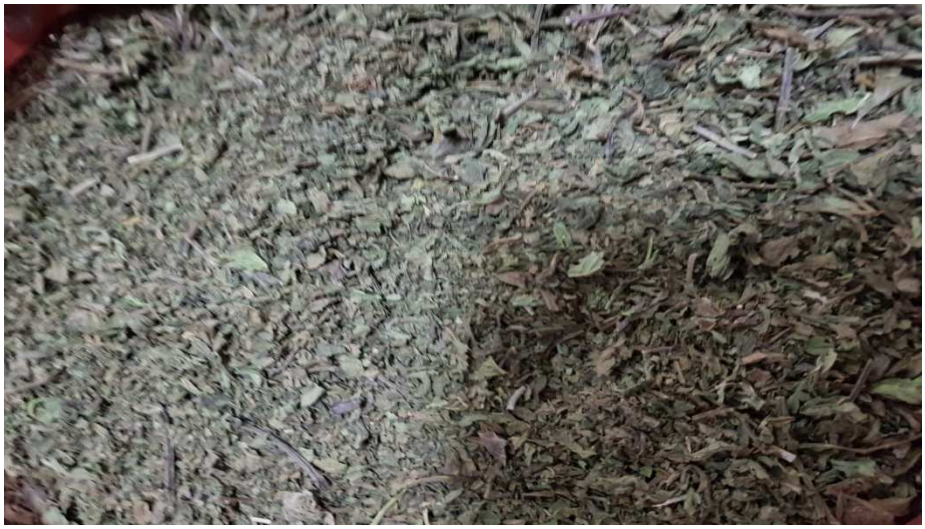


Figure 12 : ***Mentha x piperita L*** sèche **(originale)**

IV. 3. Matériel animales :

Les adultes de charançons de blé (*Sitophilus granarius)* utilisés pour les tests proviennent des élevages de masse entretenus au sein du Laboratoire de biologie d'université de D. Yahia Fares de Médéa aux niveaux de Lycée. **(Figure 13)**



Figure 13: L'élevage en masse de charançon de blé (**originale).**



Figure 14 : la face dorsale et ventrale de charançon du blé **(Originale)**

IV.4. APPAREILLAGE ET PRODUITS :

VI.4.1. Appareillage :

Les tableaux (03, 04) ci–dessous, regroupent les différents appareils utilisés dans la partie pratique.

Tableau 03 : Appareillage utilisé pour l'extraction de la plante.

Appareillage
• **Balance analytique** • **Clevenger** • **Vortex** • **Micropipette** • **Boite de Pétri**

IV.4.2. Produits chimiques utilisés :

Tableau 04: Produits et réactifs chimiques utilisés la partie expérimentale.

Produits
- **Tween (80)** - **Na_2SO_4**

IV.4.3. Formule du Tween (80) :

Synonyme(s) : polysorbate 80.

Nom systématique : polyoxyéthylène (20) sorbitan monooléate.

Nom(s) : Tween 80.

N° CAS : 9005-65-6.

Formule brute : $C_{64}H_{124}O_{26}$.

Masse molaire : 1310.00 $g.mol^{-1}$.

Aspect : liquide visqueux jaune foncé.

IV.5. METHODES :

IV.5.1. L'hydrodistillation :

La partie aérienne de la plante (feuilles) a été récoltées dans la région de tablat(Médéa) au mois Avril (2019). Les huiles essentielles (HE) ont été isolées par hydrodistillation. En utilisant un appareillage de type Clevenger (**Figure 15**). L'extraction a duré 3heures pour un mélange de 100g de matériel végétal sèche avec 3 l d'eau distillée, l'ensemble est ensuite porté

à ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d'un litre surmonte d'une colonne de 60cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d'huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L'eau et l'huile se séparent par différence de densité. Les huiles essentielles recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium (Na_2SO_4) pour éliminer les traces d'eau résiduelles et l'huile essentielle de ***Mentha x piperita L*** sera par la suite récupérée et stockée à 4° C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétiquement fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement.

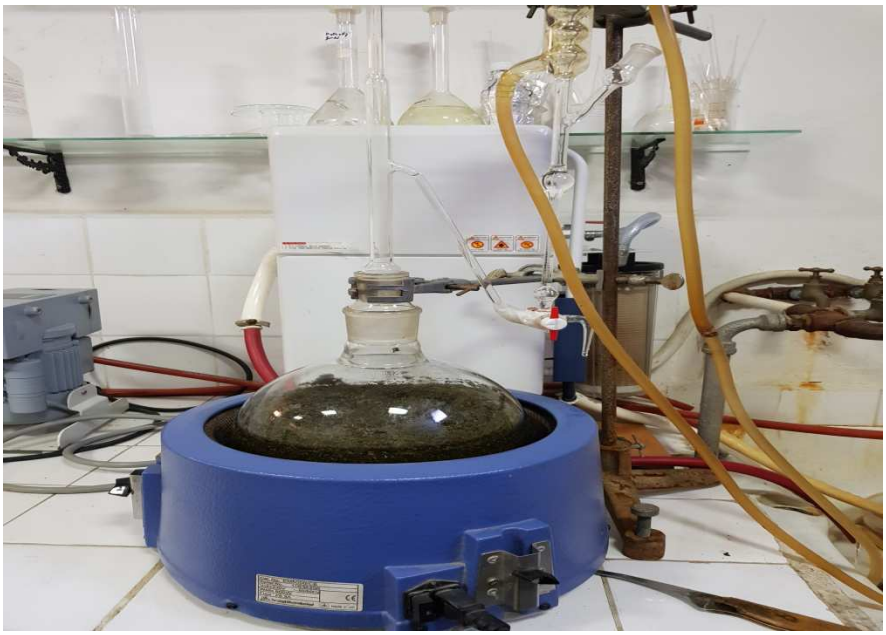


Figure 15 : Hydrodistillation ***(Clevenger)*** **(Originale**)

IV.6. ETUDE SUR *SITOPHILUS GRANARIUS* :

IV.6.1. Teste biologiques :

Dans ce travaille on a évaluer la toxicité de produis de ***Mentha x piperita L*** sur les charançons de blé, si produis sont : les huile essentielles, on a utiliser trois méthode, et pour chacun on tester quatre dose et témoin avec 3 répétitions.

IV.6.2.1. Effet les huiles essentielles de *Mentha x piperita L* :

IV.6.2.2. Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet inhalation:

L'évaluation de l'effet par inhalation s'effectue dans des boucaux en verre, une dose d'huile essentielle est disposée à l'aide d'une micro-pépète sur du coton suspendue par file à la face interne de couver cercle, après introduits de 10 couples (mâles et femelles) de charançons adultes dans chaque flacon**,** quatre doses utilisées et témoin, et pour chaque dose trois répétition. chaque dose retenue 6 temps d'exposition ont été testés, il s'agit de 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 96 h et 192 h. **(Figure 16)**.

Tableau 05 : Les doses et le temps choisis pour le test d'inhalation.

Dose (µl /cm ^{3})	Répétition	Temps
D_1 = 0.26	**R1**	**6 h**
	R2	
	R3	
D_2 = 0.13	**R1**	**12h**
	R2	
	R3	
D_3= 0.06	**R1**	**24 h**
	R2	
	R3	
D_4= 0.03	**R1**	**48 h**
	R2	
	R3	
D= témoin	**R1**	**96 h**
	R2	
	R3	**192 h**

Les différentes étapes sont regroupées dans le Dispositif expérimentale suivante (**Figure 16)**

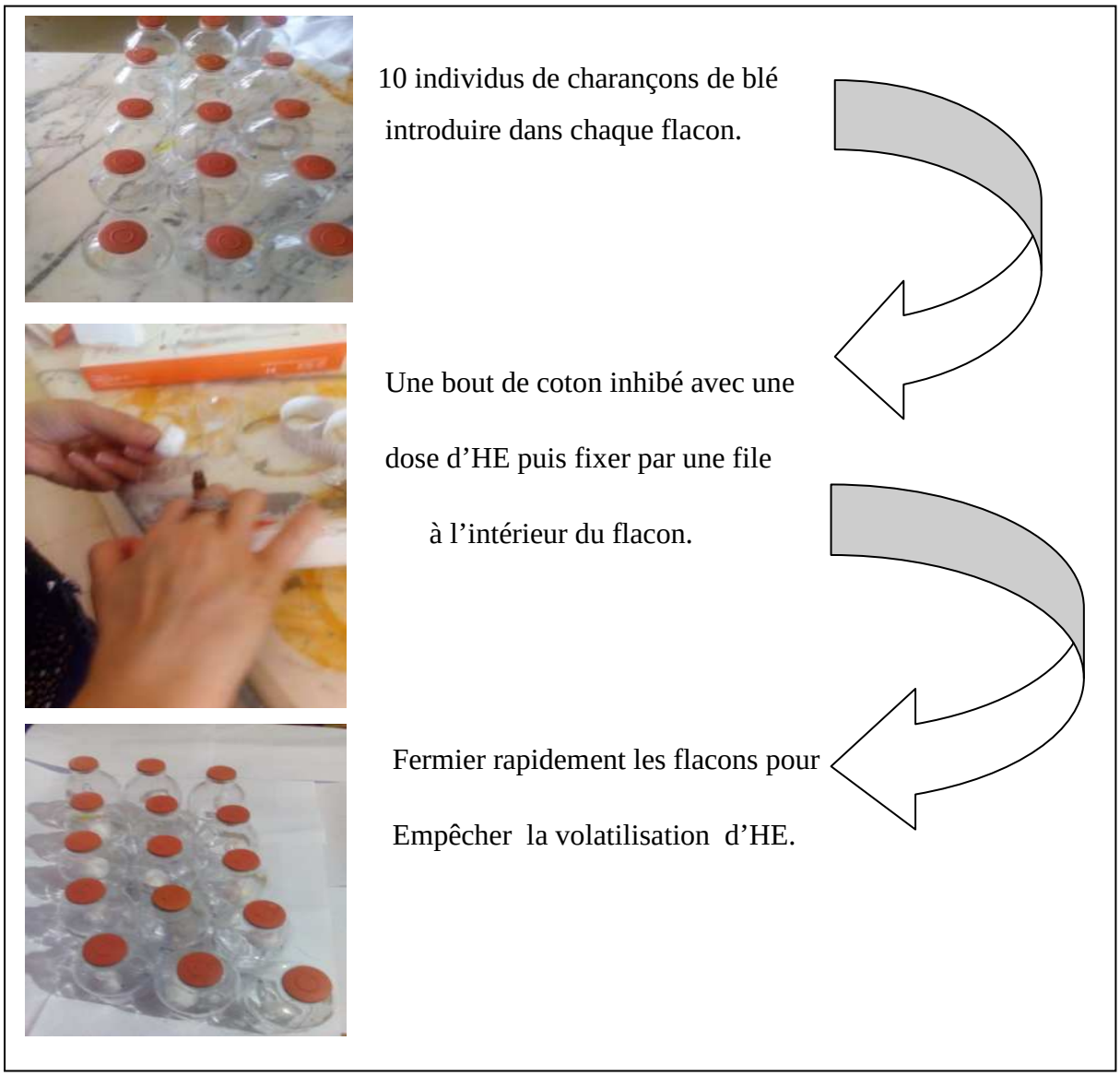


Figure 16 : Dispositif expérimentale résumer les étapes de test d'inhalation.

IV.6.2.3 : Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet contact :

Pour chaque essai, une solution de tween 80 (5%) de 1 ml, contenant chacune des huiles essentielles est dispersé d'une manière homogène sur les boites de pétri qui contient le papier absorbant et les charançons de blé. Les essais ont été répétés 3 fois pour chaque dose. Toutes les boites ont été infestées par 10 individus adultes charançons de blé. Quatre doses utilisées 120 µL, 60 µL, 30 µL, 15 µL, et témoin, et pour chaque dose retenue 6 temps d'exposition ont été testés, il s'agit de 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 96 h et 192 h **(Tableau 06)**

Tableau 06 : Les doses et le temps choisis pour le test contact.

Dose (µl/ml)	Répétition	Temps
D_1= 120	**R1**	**6h**
	R2	
	R3	
D_2= 60	**R1**	**12h**
	R2	
	R3	
D_3= 30	**R1**	**24h**
	R2	
	R3	
D_4 =15	**R1**	**48h**
	R2	
	R3	
D témoin	**R1**	**96h**
	R2	
	R3	
		192h

Les différentes étapes sont regroupées dans le Dispositif expérimentale suivante **(Figure 17)**

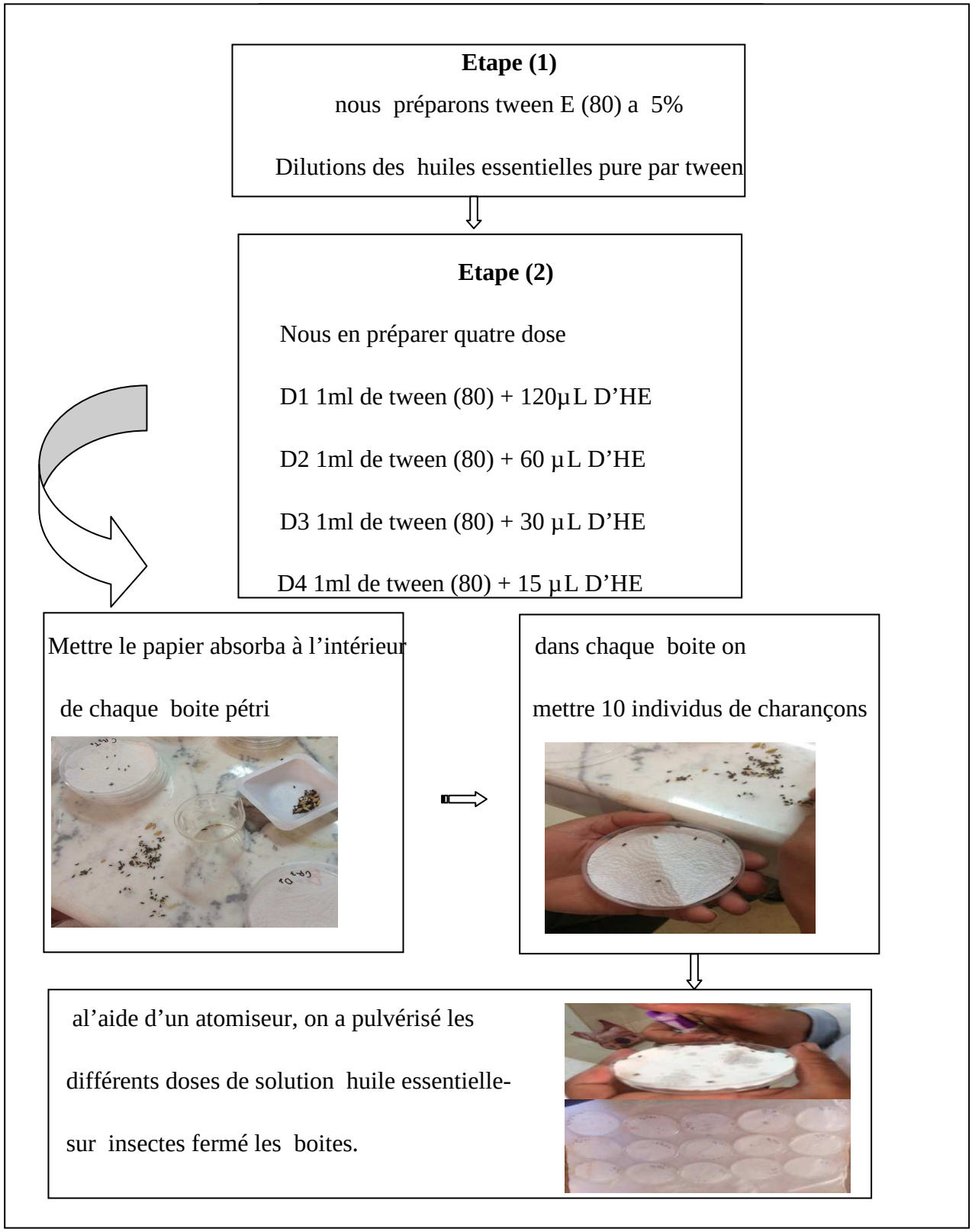


Figure 17 : les différentes étapes de teste contacte par les huiles essentielles.

IV.6.2.4 : Evaluation de la toxicité des huiles essentielles par effet ingestion :

Pour chaque essai, une solution de tween 80 (5%) de 1 ml, contenant chacune des huiles essentielles est dispersé d'une manière homogène sur les boites de pétri qui contient 5 g de blé pour chaque boite et les charançons de blé. Les essais ont été répétés 3 fois pour chaque dose.après avoir pulvérise la solution d'huile et le tween sur les grains de blé ,attendez un peu de temps pour sécher , Toutes les boites ont été infestées par 10 individus adultes charançons de blé. Quatre doses utilisées :

120 µL, 60 µL, 30 µL, 15 µL, et témoin, et pour chaque dose retenue 6 temps d'exposition ont été testés, il s'agit de 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 96 h et 192 h. **(Tableau 07)**

Tableau 07: Les doses et le temps choisis pour le test ingestion.

Dose (µL /ml)	Répétition	Temps
$D_{1=}$ 120	R1	6h
	R2	
	R3	
D_2 =60µL	R1	12h
	R2	
	R3	
D_3= 30 µL	R1	24h
	R2	
	R3	
D_4= 15 µL	R1	48h
	R2	
	R3	
D témoin	R1	96h
	R2	
	R3	192h

Les différentes étapes sont regroupées dans le Dispositif expérimentale suivante **(Figure 18)**

Etape (1)

nous préparons tween (80) a 5% Dilutions des huiles essentielles pure par tween

⇩

Etape (2)

Nous en préparer quatre dose

D_1 1ml de tween (80) + 120µL D'HE

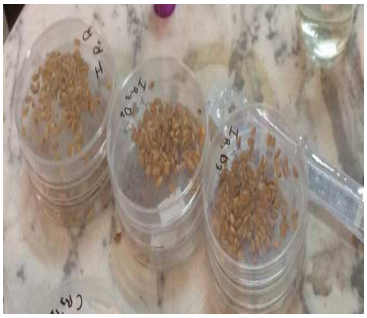
D_2 1ml de tween (80) + 60 µL D'HE

D_3 1ml de tween (80) + 30 µL D'HE

D_4 1ml de tween (80) + 15 µL D'HE

Témoin

Nous pesons 5g de blé et les Mettons dans chaque boite



(1)

nous pulvérisons la solution sur le blé et attendons qu'elle Sécher



(2)

mettre chaque boite10 individus



(3)

Figure 18: les différentes étapes de teste injonctions par les huiles essentielles.

IV.7 : Expression des résultats :

IV .7.1. Détermination du taux de mortalité :

On procède à un comptage journalier cumulé des individus morts du début jusqu'à la fin de l'expérience.

Les mortalités sont exprimées en pourcentage par la formule suivante :

Mortalité observé % = (nombre de mort / nombre tout) * 100

Les mortalités observées sont ensuite corrigées par la formule **d'ABBOT (1925)**

M C % = (M2 – Mt / 100 - M1) * 100

Soit :

- **Mt :** Pourcentage de mortalité dans le lot témoin.
- **M2 :** Pourcentage de mortalité dans le lot traité.
- **M.C(%):** Pourcentage de mortalité corrigé.

IV.7. 2.Analyse statistique des résultats :

Pour le traitement des données nous avons utilisé le logiciel Stasistica. Pour l'analyse de la variance afin de vérifier une éventuelle efficacité des différentes dilutions des huiles essentielles de ***Mentha x piperata L*** vis-à-vis les adultes de *Sitophilus granarius* (charançons de blé) testées et la comparaison entre les trois méthodes des analyses ont été faites en utilisant la procédure décrite par le Statistica.

.

Les résultats sont analysés par l'analyse de variance (ANOVA pour *Analyses Of Variance*) pour vérifier la signification de la variable d'intérêt entre toutes les combinaisons des modalités, dans les conditions paramétriques si la distribution de la variable quantitative.

IV.8. Etude de l'activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode dite : Méthode de diffusion sur milieu de culture (méthode de disque). Pour cela, on a mené des tests microbiologiques par diffusion en milieu solide.

Tableau 08 : Classification du germe *Citobacter diversus*.

Règne	***Bacteria***
Embranchement	***Proteobacteria***
Classe	***Gammaproteobacteria***
Ordre	***Enterobacyeriales***
Famille	***Enterobacteriaceae***
Genre	***Citobacter***
Nom binominal	***Citobacter diversus***

Tableau 09 : Classification du germe *Proteus mirabilis*.

Règne	**Bacteria**
Embranchement	***Proteobacteria***
Classe	***Gamma Proteobacteria***
Ordre	***Enterobacteriales***
Famille	***Enterobacteriaceae***
Genre	***Proteus***
Nom binominal	***Proteus mirabilis***

IV.8.1. Protocole

- **Préparation d'inoculum**

La revivification des différentes espèces bactériennes est faite par passage successif sur gélose nutritive. Chaque espèce est ensemencée au préalable sur une gélose nutritive, pour obtenir une culture de 18 à 24 h. Ensuite, 4 à 5 colonies bactériennes bien isolées sont mises en suspension dans l'eau physiologique à 0,9 % NaCl. Puis cette suspension est ajustée au standard Mc Farland 0,5 à l'aide d'un spectrophotomètre, correspondant à une densité optique

DO entre 0,08 à 0,1 lue à 625 nm, ce qui correspond à une suspension contenant environ de 10^8 bactéries/ ml et 10^4 levures/ml (Rodrigues et al. 2005).

- **Préparation du milieu de culture**

Le milieu de culture approprié à cette étude est le milieu Muller-Hinton préparé comme suit: 38 g de la gélose Muller-Hinton a été dissous dans un litre d'eau distillée, puis laissais le mélange bouillir avec une agitation jusqu'à dissolution complète, puis l'auto-claver pendant 20 minutes à 121°C.

Tableau 10 : Composition qualitative et quantitative du milieu Mueller Hinton.

Ingrédients	**Composition (g/L)**
Peptone	17,50
Extrait de viande	2,00
Amidon	1,50
Agar	17,00
pH final à 25°C	7,3 ± 0,1
Eau distillée	QSP

- **Activité antimicrobienne**

L'activité antimicrobienne a été réalisée en utilisant la méthode de diffusion de disque sur le milieu gélose de Muller Hinton (MH) pour les souches bactériennes, cette méthode a été standardisée par le Comité National des Normes pour Laboratoires Cliniques (NCCLS) (**Kiehlbauchet al. 2000**).

L'ensemencement de ces deux milieux est réalisé par écouvillonnage, à l'aide d'un écouvillon stérile puis l'introduit dans la suspension microbienne et essoré contre la paroi interne du tube, en réalisant des stries parallèles etaussi serrées que possible à la surface d'une boite de Pétri préalablement coulée. L'opération est répétée trois fois en tournant la boité 60° et en tournant l'écouvillon sur lui-même.

Des disques de papierfiltre, de 9 mm de diamètre, ont été séparément imprégnés de 30µg = 15 µl de chaque extrait testé (Huile ***Mentha x piperita L***) déposés à la surface de la boite de Pétri ensemencée (**Rodrigues et al. 2005**).

- **Incubation et lecture**

Après 24 h d'incubation à 37°C pour les bactéries et à 48h d'incubation à 30°C pour les levures. La lecture de l'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition de croissance en millimètres formée autour du disque (y a compris le diamètre du disque de 9 mm). Les manipulations sont répétées 3 fois pour chaque test**.** L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Mutai et *al*. (2009)** a été suivi. Ces derniers ont classé la substance testée selon le diamètre de la zone d'inhibition (D) de la croissance microbienne en cinq classes :

- Non inhibitrice: $D < 10$ mm
- Légèrement inhibitrice: $11mm \leq D \leq 16$ mm
- Modérément inhibitrice: $16 mm \leq D \leq 20$ mm
- Fortement inhibitrice: $21 mm \leq D \leq 29$ mm
- Très fortement inhibitrice: $D \geq 30$ mm

V.1. Rendement des huiles essentielles :

Le rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse sèche du matériel végétal à traiter

$$\mathbf{R = (m_1 / m_2) \times 100}$$

$$\mathbf{R = (2 / 100) \times 100 = 2\%}$$

R : rendement en huiles essentielles exprimé en %

$\mathbf{m_1}$: masse des l'huiles essentielles en gramme

$\mathbf{m_2}$: masse d'échantillon en gramme

V.2.Evaluation de l'activité insecticide des huiles essentielles sur *Sitophilus granarius* :

V.2.1. Evaluation de l'effet inhalation :

Les résultats obtenus montrent que H.E de ***Mentha x pipeata L*** a également une activité insecticide sue les adultes de *Sitophilus granarius* par effet inhalation (**Figure 19**).

Les résultats obtenus montrent que H.E de ***Mentha x piperata L*** a également une activité insecticide contre les adultes de *Sitophilus granarius* par effet inhalation. Au bout de 6h d'exposition la mortalité des adultes était 70% pour la dose de 0.06 µl /cm^3 et 63.3 % pour la dose 0.26µl/cm^3 qui augmentent rapidement dans les heures qui se suivent. En ce qui concerne la plus faible dose 0.03µl/cm^3 la mortalité était 23,3% après 6h et au bout de 24 h la mortalité enregistrée était égale à 100% pour les doses 0.06, 0.13 et 0.26µl/cm^3.

La mortalité des individus arrive à 100% au bout de 48h pour les quatre doses.

Tableau 11 : taux de mortalités (%) inhalation :

T (h)	taux de mortalités (%)			
	D_1	D_2	D_3	D_4
6	63,3	46,6	70	23,3
12	73,3	53,3	76,6	31
24	100	100	100	83,3
48	100	100	100	100

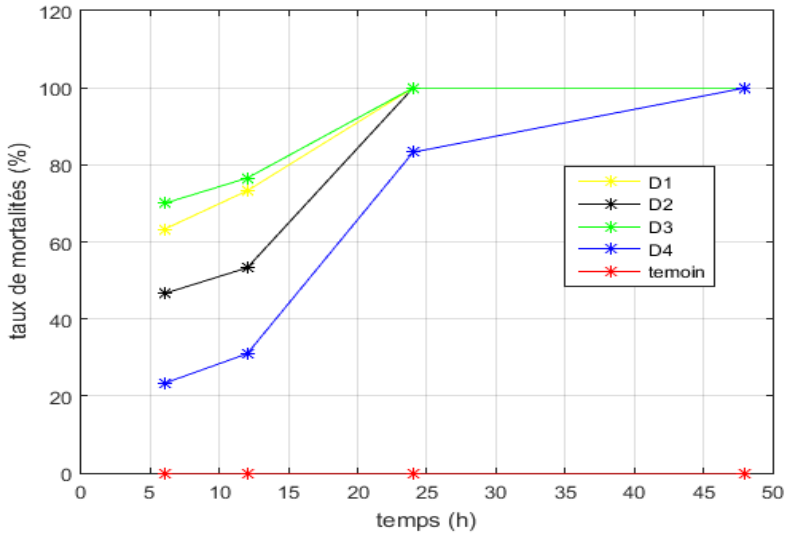


Figure 19 : Le Taux de mortalités des adultes de *Sitophilus granarius* en fonction de temps par effet inhalation des huiles essentielles du ***Mentha x piperita L.***

V.2.2. Evaluation de l'effet insecticide de HE par ingestion :

Pour l'effet ingestion, les résultats sont les mêmes que ceux obtenues pour l'effet inhalation **(Figure20).** Nous remarquons que le taux de mortalités après 24 heures varie entre 0 et 20 %. Après 48 heures, la mortalité augmente progressivement jusqu'à 50% pour la dose D1 avec des faibles mortalités pour les trois doses D_2, D_3 et D_4 ne dépassent pas 23.3%. Au bout de 96 heures, le taux de mortalité s'élève jusqu'à 60, 66.6 et 80% pour les doses D_2, D_3 et D1 respectivement. Les deux doses D_1 et D_3 atteignent approximativement le pourcentage 100% alors que les valeurs enregistrés pour les doses D_2 et D_4 étaient 76.6 et 53.3% respectivement.

Tableau 12 : taux de mortalités (%) ingestion :

t(h)	taux de mortalités (%)			
	D_1	D_2	D_3	D_4
6	3,3	0	10	3,3
12	6,6	0	10	6,6
24	13,3	13,3	16,6	6,6
48	48,3	20,68	13,75	6,93
96	78,58	57,17	64,24	14,35
182	96,22	74	81,44	48,11

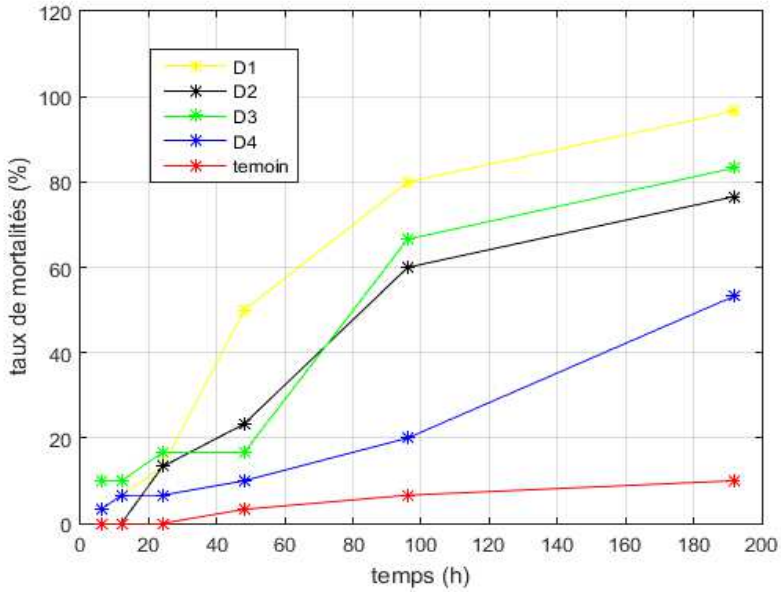


Figure20 : Taux de mortalités des adultes de *Sitophilus granarius* en fonction de temps par ingestion des huiles essentielles du ***Mentha x piperata L.***

V.3.2. Evaluation de l'effet insecticide de HE par contact :

L'évaluation de la toxicité d'HE se fait parle comptage des insectes morts et le calcul de la taux de mortalité. Les résultats obtenus révèlent que les HE expérimentées manifestent une activité insecticide par contact (**Figure 21**) forte selon la dose utilisée vis –à –vis de *Sitophilus granarius*. Pour l'H.E testée, l'efficacité est inversement proportionnelle avec la dose d'EH déposée sur le papier filtre. Nous enregistrons le taux de mortalités après le passage 6h où nous remarquons des taux de mortalités élevés dépassent 50 % ; après le passage12 h , les taux de mortalités pour les doses D_3 et D_4 à 100% et D_1et D_2 à 63.3% et 86,6% alors que D_2 atteint 100% après 48h. La dose D_1 montre un taux de mortalité égale à 100% après 96h.

Tableau 13: taux de mortalités (%) contact :

T(h)	taux de mortalités (%)			
	D_1	D_2	D_3	D_4
6	53,3	70	93,3	86,6
12	63,3	86,6	53,3	70
24	70	86,6	100	100
48	86,6	100	100	100
96	100	100	100	100

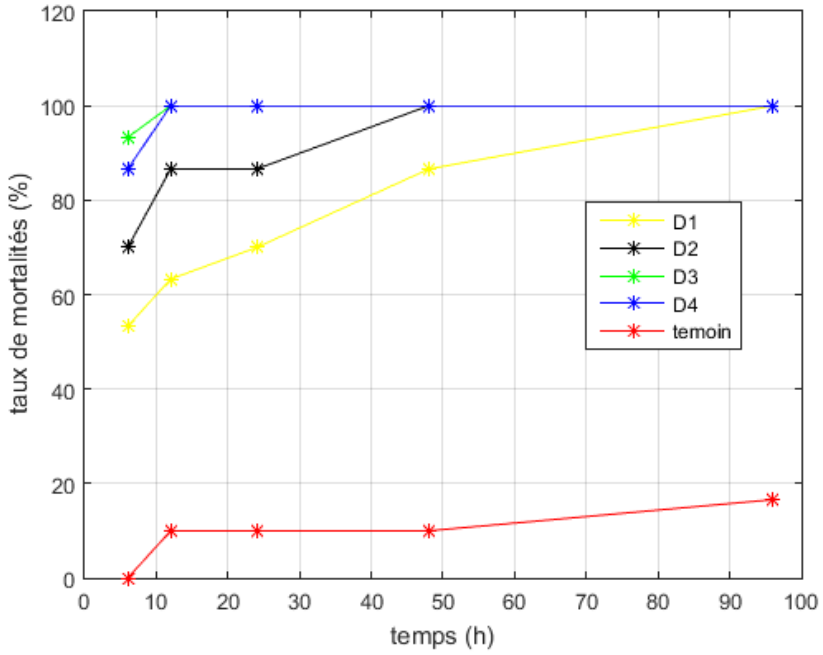


Figure 21: Taux de mortalités des adultes de *Sitophilus granarius* en fonction de temps par contact des huiles essentielles de ***Mentha x pepirita L.***

V.4.Analyse statistique (analyse de variance) :

Dans ce test, nous observons augmentation progressive de la mortalité en fonction de la dose, la méthode d'application.

D'après les résultats statistiques, nous constatons l'huile essentielle de ***Mentha x piperita L*** nous constatons qu'il existe une différence hautement significatives à $P \leq 0{,}05$ entre les trois méthodes d'application. (**Tableau 14)**

En effet, en modèle GLM une légère variabilité a été décelée entre les trois méthodes concernant les taux la mortalité d'huile essentielle vis-à-vis *Sitophilus granarius.* Méthode de contacte ont enregistré des taux de mortalité plus importants atteignant 100 %, confirmant leur forte effet insecticide sur *Sitophilus granarius.* (**Figure 22)**

La dose (D_1=0.26 µl/cm3) et (D_2=0.13 µl/cm_3) et (D_3=0.06 µl/cm_3) par la méthodes d'inhalation sont les plus efficace avec une moyenne varie entre 75% et 85% suivi par la faible doses (D_4=0.03 µl/cm3**)** avec un taux mortalité moyenne de 60%. Par ailleurs, la mortalité a été haute vis à vis les doses de huile essentielle appliquer par la méthode contact

avec une pourcentage 100% pour les doses (D_3=30 µl) et (D_4=15 µl) et entre 70% et 80% pour la dose (D_1=120 µl) et (D_2=60µL)

et la mortalité a été lente vis à vis les doses de huile essentielle appliquer par la méthode injection avec un faible pourcentage varie entre 20% et 40% au bout de 192 heures
pour la dose (D_1=120 µl) = 40% et (D_2=60 µl) = 30% et 20% pour (D_1=30µl) et(D_4=15µl)
L'analyse comparée des effets des substances testées montre que d'exposition, l'activité insecticide de l'huile essentielle de ***Mentha x piperita.L*** *la méthode contacte plus efficace* pour les dose D_2.D_3 et D_4 méthode d'inhalation plus efficace pour dose D_1

Tableau 14 : Analyse de la variance de la mortalité d'huile essentielle vis-à-vis *Sitophilus granarius.*

Descriptives

	N	Moyenne	Ecart-type	Erreur standard	Intervalle de confiance à 95% pour la moyenne		Min	Max	Variance inter-composantes
					Borne inférieure	Borne supérieure			
D.1 Inhalation contacte Ingestion Total Modèle	4	84,1500	18,75180	9,37590	54,3117	113,9883	63,30	100,00	
Effets fixes Effets aléatoires	5	72,8580	19,32437	8,64212	48,8636	96,8524	53,30	100,00	
	6	41,0500	39,71579	16,21390	-,6292	82,7292	3,30	96,22	
	15	63,1460	33,38201	8,61920	44,6597	81,6323	3,30	100,00	
			29,48917	7,61407	46,5564	79,7356			
				13,29736	5,9321	120,3599			347,27671
D.2 Inhalation Contacte	4	74,9750	29,02555	14,51277	28,7889	121,1611	46,60	100,00	
Ingestion Total Modèle	5	88,0440	12,53689	5,60667	72,4774	103,6106	70,00	100,00	
Effets fixes Effets	6	27,5250	30,99422	12,65334	-5,0014	60,0514	,00	74,00	
Aléatoires	15	60,3513	36,95034	9,54054	39,8889	80,8137	,00	100,00	
			25,75421	6,64971	45,8629	74,8398			
				19,62455	-24,0863	144,7890			996,14961
D.3 Inhalation Contacte	4	86,6500	15,64896	7,82448	61,7490	111,5510	70,00	100,00	
Ingestion	5	98,6600	2,99633	1,34000	94,9396	102,3804	93,30	100,00	
Total Modèle Effets	6	32,6717	31,68358	12,93477	-,5782	65,9215	10,00	81,44	
fixes Effets aléatoires	15	69,0620	37,17999	9,59983	48,4724	89,6516	10,00	100,00	
			21,96556	5,67148	56,7049	81,4191			
				21,65936	-24,1307	162,2547			1276,83706
D.4 Inhalation	4	59,4000	37,98833	18,99417	-1,0479	119,8479	23,30	100,00	
Contacte Ingestion Total	5	97,3200	5,99266	2,68000	89,8791	104,7609	86,60	100,00	
Modèle Effets fixes Effets aléatoires	6	14,3150	16,95296	6,92102	-3,4760	32,1060	3,30	48,11	
	15	54,0060	42,13850	10,88011	30,6705	77,3415	3,30	100,00	
			22,19235	5,73004	41,5213	66,4907			
				25,61082	-56,1885	164,2005			1820,69052

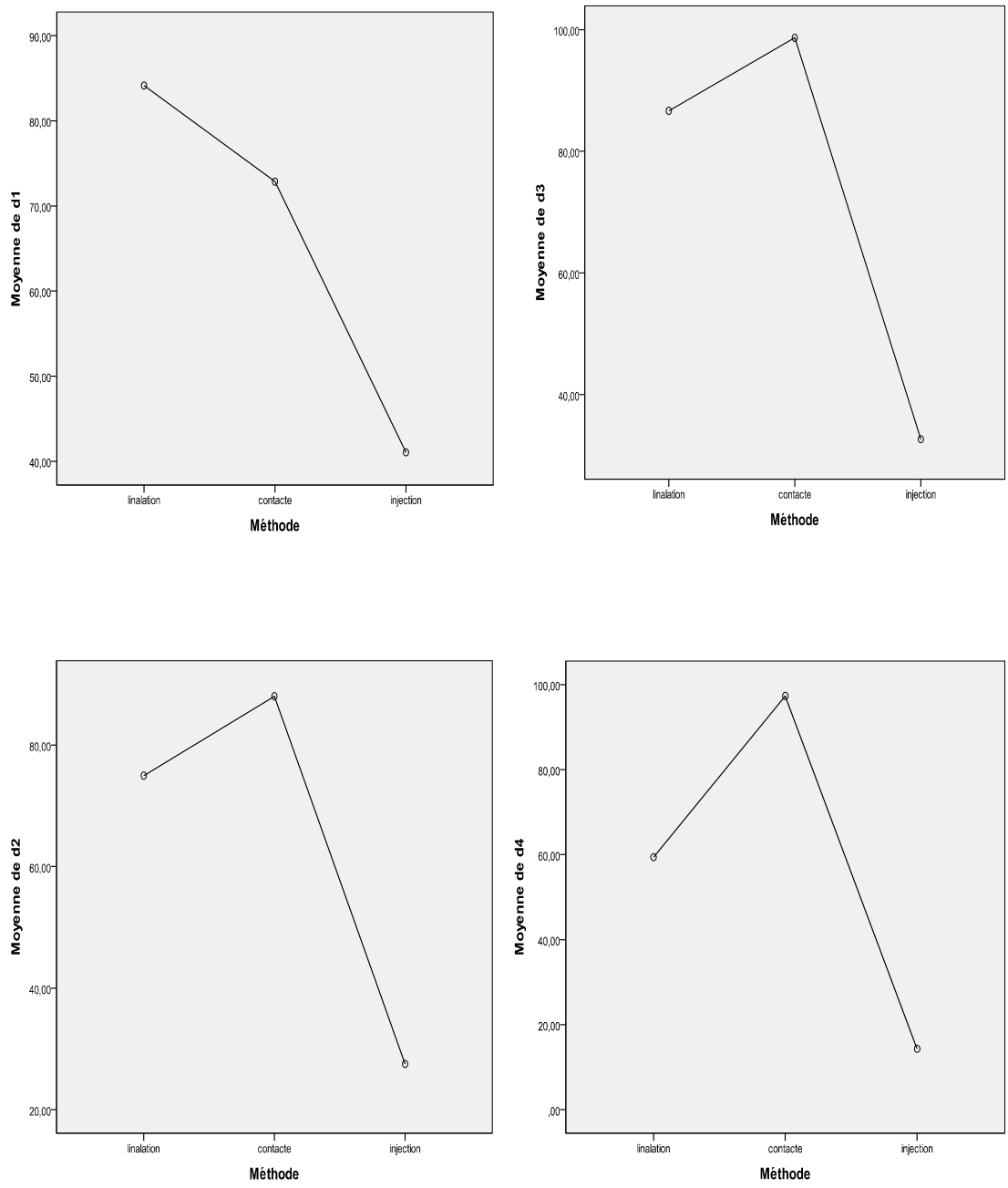


Figure22 : Activité insecticide des huiles essentielles de ***Mentha x piperita.L*** en model G.L.M
selon la dose, la méthode d'application.

V.5. ACTIVITE ANTIBACTERIENNE :

L'activité antibactérienne de notre huile essentielle de ***Mentha x piperita L*** a été étudiée sur deux souches bactériennes : *Citobacter diversus* (*CD*) et proteus mirabilis (*PM*).

Les résultats obtenus ont montré que notre huile essentielle (***Mentha x piperita L***) a un effet antibactérien et inhibiteur moyen sur le développement de deus souches.

Cet effet antibactérien d'huile est dû à la présence de menthol connus pour leur effet antimicrobien.

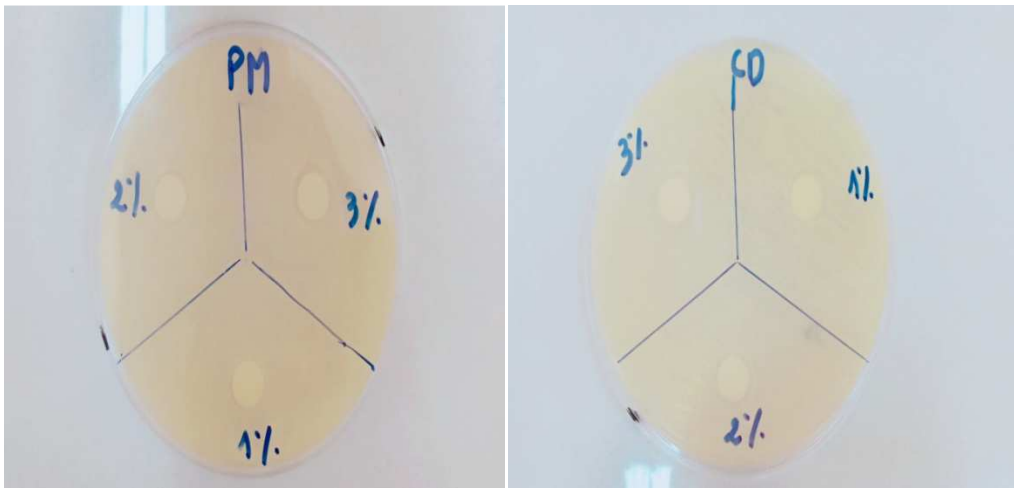


Figure 23: Résultats de l'étude antibactérienne d'huile essentielle **(*Mentha x piperita L*)** sur les deux souches *CD* et *PM*.

Tableau. 15 : Résultats de l'activité antibactérienne pour les souches testées.

[C] / Bactéries	1(%)	2(%)	3(%)
Citobacter diversus	**+**	**++**	**+++**
proteus mirabilis	**-**	**+**	**++**

(-) : effet antibactérien négatif. **(+)** : effet antibactérien positive. **(++)(+++)** : effet antibactérien puissant.

La Concentration d'huile pour avoir un effet antibactérien pour la bactérie ***Citobacter diversus*** *c'est* ***1(%)*** *et pour la bactérie* ***Proteus mirabilis*** c'est **2%**

V.6. Activités insecticides :

V.6.1.Traite ment par inhalation

D'après les résultats obtenus, nous constatons que les extraits de plante testée (***Mentha x piperita L.***) ont un effet insecticide forte vis-à-vis de charançons de blé ; avec un taux maximum de mortalité de 100 % pour ***Mentha x piperita*** L. après 24 h.

V.6.2. Traite ment par contact

Nos essais réalisés ont montré que les extraits de plante teste (***Mentha x piperita L.)*** ont un effet insecticide forte avec un taux de mortalité maximum à 100 % au bout de 96 h d'exposition.

V.6.3.Traitement par ingestion

Les essais montrent que les extraits de plante teste (***Mentha x piperita L.)*** ont un effet insecticide forte avec un taux de mortalité élevé à 96.66 % au bout de 192 h d'exposition.

D'après les résultats obtenus, les doses les plus efficaces avec un taux de mortalité à 100 % correspondants à la dose D_3, D_1 et D_2 pour l'inhalation respectivement**.** La dose plus efficace par contact à un taux de mortalité à 100 % correspondant à la dose D_3 et D_4.

Tandis que pour l'injection, les doses plus efficaces ont des taux de mortalité à 96.66, 83.3 respectivement à les dose D_1 et D_3.

Cette toxicité peut être due au fort taux de substances que contiendraient ces extraits. Selon **Boscher et *al.* (1995),** le taux de substances varie non seulement d'une espèce à l'autre, mais également à l'intérieur de l'espèce selon l'organe, la variété, le stade de développement et les conditions environnementales considérées.

Bonhiol in Boujamaa (2008) a montré que la composition chimique des feuilles varie suivant la position au sommet ou à la base de la plante, l'exposition, l'heure du jour et la saison.

Nous trouvons parfois des taux de mortalité élevés pour une dose faible par rapport à une dose forte. La non corrélation entre les doses peut être due à l'hétérogénéité des populations de ***Mentha x piperita L.*** traitées.

D'après ces résultats, nous constatons que l'application par inhalation, contact et injections de l'extrait aqueux de (***Mentha x piperita L.***) a enregistré un taux de moralité fort égalent à 100%, 100% et 96.6% respectivement .

(SADOK.D , BENTUNES.F. 2016) a enregistré des taux de mortalité de 96, 96 et 88% pour les doses respectives 10, 20 et 30 % après 72h de l'exposition.

Par ailleurs, Bouhadiba (2014) a enregistré des taux de mortalité différents ; en effet, un taux de 20% a été relevé pour la dose de 25%, et 10% pour 25% après 24h d'exposition à l'extrait polyphénolique.

Benazzeddine (2010) souligne que par contact les cinq huiles essentielles (Citronnelle, Romarin, Eucalyptus, Thym et Menthe) manifestent un taux de mortalité assez important sur les deux espèces, toutes les huiles ont une efficacité très forte qui dépasse 88 % de mortalité sur *S. oryzae* à l'exception de la Citronnelle qui n'a atteint pas les 70 % de mortalité.

V.6.4.Activité antimicrobienne :

La Concentration d'huile pour avoir un effet antibactérien pour la bactérie ***Citobacter diversus*** *c'est* ***1(%)*** *et pour la bactérie* ***Proteus mirabilis*** c'est **2%**

Ces résultats rejoignent d'une manière plusieurs travaux :

Meriem.A et al 2016 a noté des résultats de CMI varient entre 1,25 et 10 (µl/ml) pour plusieurs espèces de bactéries de Gram+ et Gram-.

Les problèmes de la résistance des ravageurs des cultures et de la nocivité des insecticides synthétiques utilisés ont abouti à la nécessité de trouver des alternatives plus efficaces et plus saines. Ainsi, les huiles essentielles sont les produits les plus testés actuellement. Ces insecticides naturels, dits insecticides de plantes, présentent plusieurs avantages par rapport aux composés synthétiques à cause de leur biodégradation rapide et la réduction des risques de l'environnement.

Le but de ce présent travail était d'évaluer l'effet des huiles essentielles de la plante *Mentha x piperita L.* sur l'aspect toxique, ses étude d'évaluer l'activité insecticide et l'activité antibactérienne d'huiles essentielles *Mentha x piperita L.* de régions de (Tablat) sur les charançons de blé (*sitophilus granarius*).

Au cours de cette étude, le rendement des HE de la menthe séchée obtenu par la méthode d'hydrodistillation était environ de 2%.

Trois tests sont appliqué sur les individus de lesquelles : par inhalation, par contacte et par injection des HE. Les résultats obtenus montrent que le HE de *Mentha x piperita L a* une activité insecticide très importante sur *sitophilus granarius*. Tel que la totalité de la population examinée a été morte après 24 h d'inhalation d'HE pour les doses supérieures à 0.06 µl /$cm^{3,}$ et Les résultats montrent aussi que *sitophilus granarius* ne peuvent pas survivre après 48 h d'inhalation d'HE de 0.03 µl /cm^3.

L'activité insecticide par effet contacte montrent une mortalité corrigée de100% pour les concentrations (D_3=30µl/ml) et (D_4=15µl/ml) après 12h, et 59,22% et 85,11% pour les doses (D_1=120µl/ml) et (D_2=60µl/ml) successivement. Mais le taux de mortalité devient totale après 48 h pour (D_2=60µl/ml), et après 96h pour (D_1=120µl/ml).

La mortalité corrigée est faible dans le cas de L'effet par injection par rapport les deux méthodes précédentes. Et prendre plus de temps pour attendre le maximale, elle attend 96.22% pour (D_1=120µl/ml),76.6% pour (D_2=60µl/ml),84.33%pour (D_3=30µl/ml), et 53.3% pour (D_4=15µl/ml) après 192h.

Pour l'activité antibactérienne, les résultats de cette présente étude montrent clairement que l'huile essentielle, est capable d'inhiber la croissance microbienne ***Citobacter diversus*** et

proteus mirabilis. La CMI pour la bactérie ***Citobacter diversus*** *est 1% et pour la bactérie* ***proteus mirabilis*** est environ 2%.

À l'issus de tous ces résultats, nous ne retiendrons que l'HE de notre plante exerce un effet insecticide efficace sur les charançons de blé étudiés et pourrait par conséquent être utilisé dans la lutte biologique contre les bioagresseurs animaux.

Références bibliographique

[1] : Alessandra Moro Buronzo, grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être, Hachette pratique france, 2008, 205.

[2] : Alssandra Moro Buronzo. Grandse guide des huiles essentiels santé beauté marocaine :Moyen efficace de lutte contre les ravagerurs des denrées alimentaire.

[3] : Il Edrissi A .,Thése de troisiéme cycle , Etude des huiles essentielles de quelques espèces salivia , Lavandula et mentha du maroc , faculté Sciences Rabat Maroc 1982,18-20.

[4] : FRANCHOMME,p.,JLLOIS,R.,PENOEL,D.L'aromathérapie exactement :Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles Editions Jollois ,2001.

[5] :Département de zoologie agricole et for estière, InNtional Agronomique El-Harrach khalfi – Habes ouassi laBoutekedjirt Chahrazed 2 etseIl ami samira.

[6] : Jean Bruneton, *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*,Techniques et Documentation, 3e édition, 1999

[7] : **HAKAN et *al*., 2007).**

[8]: McKay DL, Blumberg JB, A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (Menthapiperita L.), Phytiatries. 2006 Aug;20(8):619-33

[9] : Monographie "Plants for a future" Menthapiperita

[10] : Article d'ifood TV en anglais sur les allergies

[11] : http://sante.journaldesfemmes.com/temoignage/temoignage/373147/allergie-ala-menthe/

[12]:http://www.futura-sciences.com/

[13]: Handbook of Chemistry and Physics, 71e éd., CRC Press, Ann Arbor, Michigan, 1990.

[14] : Histoire abrégée des drogues simples, Nicolas Jean-Baptiste G. Guibourt, 1826, p 41.

[15] : Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol.2 Dermatologie. D.Baudoux et A.Zhiri Ed. Inspir 2006.

[16] :Natural Standard (Ed). Herbs & Supplements - Peppermint oil (Mentha x piperita L.), Nature Medicine Quality Standard.[Consulté le 12 avril 2011].

[17] : A.O Tucker, R. Naczi, « Chap.I :Mentha: An Overview of Its Classification and Relationship », dans Brian M. Lawrence (ed.), Mint: The genus Mentha, CRC Press, 2006

[18] :Ohara A, Matsuhisa T., « Anti-tumor promoting activities of edible plants against okadaic acid », Food Sci Technol Res, vol. 8,2002

[19] : Définition présente dans l'introduction des recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles (mai 2008) de l'Afssaps

[20] :Georges Sens-Olive, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine, 1979, p. 143-144.

[21] : http://blog.composition-naturelle.com/huiles-essentielles.html

[22] :Franchomme P. et Pénoël D. L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois Éditeur, France, 1990.

[23]:Seenivasan Prabuseenivasan, Manickkam Jayakumar et Savarimuthu Ignacimuthu, In vitro antibacterial activity of some plant essential oils, Complementary and Alternative Medicine, 2006, 6:39

[24] : Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; Martínez, J.R., Comparación de la composición química y de la activité antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae, Rev. Acad. Colomb. Cienc.Exactas Fis. Nat., 2003, 27, 105, 579-597.

[25] : 38 huiles essentielles (livre et ses 38 cartes) par Françoise Elliott aux Editions Trédaniel, 2008.

[26] : Natural Standard (Ed). Herbs & Supplements - Peppermint oil (Mentha x piperita L.), Nature Medicine Quality Standard.[Consulté le 12 avril 2011].

[27] :Marie Elisabeth Lucc, thèse sur : Extraction sans solvasnt asistée par Microondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, université de la reunion, 13 juillet 2005, 59-71.

[28] : Bruneton J. *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales* (Lavoisier, Paris ed.) ; 1993.

[29] : Pistelli L. *Comparaison des systèmes d'extraction des huiles essentiellles avec une, référence particulière aux liquides ioniques (IL).* Université de Piz, Italy, 2015

[30] : Cazau-Beyret N. Prise en charge des douleurs articulaires par aromathérapie et phytothérapie. Thèse. université Toulouse III Paul Sabatier,2013

[31] :Chalchat J. K., Carry L. P., Menut C., Lamaty G., Malhuret R. & Chopineau J. *Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils* (Oil Res. ed.),1997

[32]: Hajji, S., Beliveau, J. et Simon, D. Comparative study of an essential oil obtained according to two different extraction procedures: steam distillation and hydrodiffusion." *Actes - Colloq. Int. Plant. Aromat. Med. Maroc*: 229-230,1985

[33] :El-Kalamouni C.*Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées.* Université de toulouse ,2010

[34] :https://fr.bestinsectkiller.com/rice-weevil-photo-description-how-to-get-rid-843344

[35] :https://www.abatextermination.ca/le-charancon-du-riz/

[36]: Abertvian M, **«** Microwave hydrodiffusion and gravity new technique for extraction of essential oils », Journal of ChromatographyA,1190,14-17 ,2008

[37]: Luthria D, "Oil extraction and Analysis: critical issues and comparative studies, "2004.

[38] :Vagi E, Simandi B, Suhajda A, Hethelyi E. Essential oil composition and antimicrobial activity of Origanum majorana L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. Food research international. 2005;38:51-7.

[39] :Zarnowski R, Suzuki Y. Expedient Soxhlet extraction of resorcinolic lipids from wheat grains. Journal of Food Composition and Analysis. 2004;17:649-63.

[40] :Luque-Garcıa J, De Castro ML. Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications. Talanta. 2004;64:571-7.

[41] :Lucchesi ME, Chemat F, Smadja J. Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. Journal of Chromatography A. 2004;1043:323-7.

[42]: Rezzoug S, Baghdadi M, Louka N, Boutekedjiret C, Allaf K. Study of a new extraction process: controlled instantaneous decompression. Application to the extraction of essential oil from rosemary leaves. Flavour Fragrance J. 1998;13:251-8.

[43] :Amor BB, Allaf K. Impact of texturing using instant pressure drop treatment prior to solvent extraction of anthocyanins from Malaysian Roselle (Hibiscus sabdariffa). Food Chemistry. 2009;115:820-5

[44] : Colette B. Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées Université de La Rochelle; 2008.

[45] :Allaf T, Tomao V, Besombes C, Chemat F. Thermal and mechanical intensification of essential oil extraction from orange peel via instant autovaporization. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 2013;72:24-30.

[46] :Silverstein R.M., Bassler G.C., Morill T.C., Spectoscopic identification of organic compounds, 5th edition, John Wiley & Sons, New York, 1991.

[47] :Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A., Witier P., Manuelpratique de chromatographie en phase gazeuse, Masson, Paris, 1995.

[48] :Kováts E., Gas Chromatographic characterization of organic substances in theretention index system, in *Advances in Chromatography*, Chap. 7, 1965, 229-247.

[49]:Van Den Dool H., Kratz P.D., A generalization of the retention index systemincluding linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography, *J.Chromatogr.*, , **11**, 463-471,1963 [89] Joulain D., König W.A., The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, Ed. E.B.-Verlag, Hambourg, 1998.

[50]: Joulain D., König W.A., The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, Ed. E.B.-Verlag, Hambourg, 1998

[51]: Grundschober F., The identification of individual components in flavouring and flavoured foods, *Z. Lebensm. Unters.Forsh 1991.*,**192**, 530-534.

[52]: Marriott P., Shellie R., Fergeus J., Ong R., Morrison P., High resolutionessential oil analysis by using comprehensive gas chromatographic methodology,*Flavour Fragr. J.*, 15, 225-239, 2000.

[53] :Marriott P., Shellie R., Cornwell C., Gas chromatographic technologies for theanalysis of essential oils, *J. Chromatogr. A*, **936**, 1-22,2001

[54] :Casabianca H., Graff J.B., Jame P., Perruchieti C., Application of hyphenatedtechniques to the chromatographic authentication of flavors in food products andperfumes, *J. High Resol. Chromatogr.*, 1995, **18**, 279-286.

[55] :Casabianca H., Graff J.B., Faugier V., Fleig F., Grenier C., Enantiomericdistribution studies of linalool and linalyl acetate. A powerful tool for authenticity control of essential oils, *J. High Resol. Chromatogr.*1998, **21**, 107-112.

[56] :König W.A., Bülow N., Saritas Y., Identificatio

[57] :Anton R Lobskin A- Plantes Aromatiques. Epices, Aromates, Condiments Et Huiles E Ssentielles ; Tec Et Doc, Paris 522p 2005.

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

[59] :https://fr.bestinsectkiller.com/rice-weevil-photo-description-how-to-get-rid-843344

[60]https://www.abatextermination.ca/le-charancon-du-riz/