



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université ABOU BEKR BELKAÏD DE TLEMCCEN  
Faculté des Sciences  
Département de Chimie  
Laboratoire des substances naturelles et bioactives  
(LASNABIO)

## MEMOIRE

*En vue de l'obtention du MASTER EN CHIMIE*  
*Option: Molécules Bioactives, Synthèse et Application*

## Thème

**Variabilité chimique et intérêt économique des huiles  
essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium*  
(Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l'ouest algérien.**

Présenté par : *Melle Amina TAALBI*

Soutenu le 05/06/16 devant le comité du jury composé de :

Président	Boufeldja TABTI	Professeur	Université de Tlemcen
Examineurs	Mohamed El Amie DIB	Professeur	Université de Tlemcen
	Nouria MERAD	MCA	Université de Tlemcen
Encadrant	Nassim DJABOU	MC(A)	Université de Tlemcen

Année Universitaire **2015/2016**

## **Remerciement**

*Avant toutes choses, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné la force et la patience.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance à **Dr Nassim DJABOU** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseils et la confiance qu'il m'accordait m'ont permis de réaliser ce travail.*

*Le présent travail a été effectué dans le Laboratoire de Chimie Organique, Substances Naturelles et Analyses (COSNA), pour cela je tiens à remercier son directeur **Pr.J. Kajema Mulengui** et tous ses membres pour l'accueil dont ils nous ont fait foie.*

*J'exprime ma profonde reconnaissance au responsable du Master MBSA le **Dr. Mohamed el Amine DIB** pour ses conseils et son orientation durant mes études en Master.*

*Je remercie également tous les membres du Laboratoire de Chimie des Produits Naturels (CPN) de l'Université de Corse (France) et plus particulièrement son directeur le **Pr Jean COSTA**, ainsi que le **Pr Alain MUSELLI** pour les analyses qui nous ont réalisés.*

*Je remercie au même titre le laboratoire COSNA, son directeur, et l'ingénieur de recherche Mr **Hassan BENARIBA** pour leurs contributions et leurs aides concernant la réalisation des analyses chimiques des huiles essentielles.*

*J'exprime mes sincères remerciements au **Pr Mourad BENDAHOU**, membre du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) pour la réalisation des tests des activités bactériennes.*

*Je veux aussi remercier les membres d'équipe de Botanique de l'Université de Tlemcen et son directeur **M. Fayçal HASSANI**.*

*Je remercie vivement les membres de ce jury:*

- *Madame **Dr N, MERAD** Merci pour avoir acceptée de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à mon travail et pour le temps consacrée afin de l'évaluer.*
- *Monsieur **Pr B. TABTI** Je suis très honorée que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements et soyez assuré de ma profonde gratitude.*

• *Monsieur **Pr M.A. DIB.**, votre venue en tant qu'examineur m'honore, je vous suis très reconnaissante et je vous adresse mes vifs remerciements.*

*Je remercie vivement la doctorante **Fatima Zahra BENOMARI**, qui m'a suivi le long de mon stage, pour l'aide qu'elle m'a apporté pour la réalisation de ce travail.*

*Toutes mes salutations à tous mes collègues de la promotion du **Master MBSA2016** pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.*

*Que toute personne ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, trouve ici l'expression de mes très vifs remerciements*

*Je ne saurai jamais assez remercier toute ma famille, en particulier ma mère, mon père, mes sœurs et frères, mes cousines et cousins, Tantes et Oncles pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard*

*Enfin, ne pouvant citer tous ceux et celles qui m'ont été d'un apport petit ou grand, je leur adresse mes remerciements les plus sincères.*

# ***DÉDICACES***

*Les louanges sont à Allah seigneur des mondes qui ma comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail*

*que je dédie :*

*A ceux que j'aime du fond de mon cœur, à qui je dois la vie et qui n'ont cessé, à aucun moment, de me soutenir et de m'encourager par*

*leurs prières et leurs sacrifices :*

*Mes cher parents ;*

*A mes frères et sœurs ;*

*À mon fiancé : Abdelouahab ;*

*A mes Tantes et Oncles, pour leur amour et leur soutien ;*

*A mes cousins et cousines;*

*A toute ma famille ;*

*A mes fideles amies : Ikrame, Habiba, Fatiha et Sakina;*

*A mes frères et sœurs que Dieu m'a donné sur le chemin de l'aventure, tous les étudiants du Master MBSA.*

# LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1** : Noms communs et usage de *M. pulegium* et *M. rotundifolia*.

**Tableau 2** : Bibliographie des huiles essentielles de *Mentha pulegium* dans le monde.

**Tableau 3** : Aspect économique de *Mentha pulegium*.

**Tableau 4** : Bibliographie des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* dans le monde.

**Tableau 5** : Stations de récolte de la *Menthe pulegium*.

**Tableau 6** : Stations de récolte de la *Menthe rotundifolia*.

**Tableau 7** : Les organes séparé de *Mentha pulegium*.

**Tableau 8** : Les organes séparé de *Mentha rotundifolia*.

**Tableau 9** : Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha pulegium*.

**Tableau 10** : Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*.

**Tableau 11** : Les propriétés organoleptiques de deux huiles essentielles.

**Tableau 12** : Pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de *M. pulegium*.

**Tableau 13** : Pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de *M. rotundifolia*.

**Tableau 14** : Les teneurs relatives des quelques constituants de l'huile essentielle de *M. pulegium*.

**Tableau 15** : Pourcentages d'inhibition de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Mentha pulegium*.

**Tableau 16** : Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Mentha rotundifolia*.

**Tableau 17** : Résultats du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. pulegium*.

**Tableau 18** : Résultats du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. rotundifolia*.

**Tableau 19** : Résultats du test de blanchissement du  $\beta$ -carotène de *M. pulegium*.

**Tableau 20** : Résultats du test de blanchissement du  $\beta$ -carotène de *M. rotundifolia*.

**Tableau 21** : Résultats des activités antimicrobiennes sur les huiles essentielles de *M. pulegium* et *M. rotundifolia* par la méthode des disques.

**Tableau 22** : Résultats des activités antimicrobiennes sur Les huiles essentielles de *M. pulegium* et *M. rotundifolia* par la méthode des CMI.

# LISTES DES FIGURES

**Figure 1** : Aire de répartitions des menthes dans le monde.

**Figure 2** : Représentation schématique et photo de la *Menthe pulegium*.

**Figure 3** : Représentation schématique et photo de la *Menthe rotundifolia*.

**Figure 4** : Montage d'un hydrodistillateur Clevenger.

**Figure 5** : Identification des constituants de mélanges complexes de volatils par combinaison les techniques CPG et CPG/SM.

**Figure 6** : Analyses complémentaires mises en œuvre pour l'identification des constituants d'une huile essentielle.

**Figure 7** : Courbe d'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha pulegium*.

**Figure 8** : Courbe d'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*.

**Figure 9** : Composés majoritaires dans l'huile essentielle de *M. pulegium*.

**Figure 10** : Composés majoritaires dans l'huile essentielle de *M. rotundifolia*.

**Figure 11** : Pourcentage d'inhibition HE de *M. pulegium*.

**Figure 12** : Pourcentage d'inhibition Ex HY de *M. pulegium*.

**Figure 13** : Pourcentage d'inhibition HE de *M. rotundifolia*.

**Figure 14** : Pourcentage d'inhibition Ex HY de *M. rotundifolia*.

**Figure 15** : Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. pulegium*.

**Figure 16** : Résultats du test de la méthode de FRAP de *Mentha pulegium*.

**Figure 17** : Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. rotundifolia*.

**Figure 18** : Résultats du test de la méthode de FRAP de *Mentha rotundifolia*.

**Figure 19** : Fraises non traitées par l'hydrolat (témoin).

**Figure 20** : Fraises traitées par l'hydrolat de *M. pulegium*.

**Figure 21** : Fraises traitées par l'hydrolat de *M. rotundifolia*.

**Figure 22** : Stations de récolte de *M. pulegium*.

**Figure 23** : Stations de récolte de *M. rotundifolia*.

## Liste des abréviations

PPAM : Plantes à Parfum, Aromatiques et Médicinales.

F : alimentaire.

M : Médical.

A : Aromatique.

HD : Hydrodistillation.

EV : Entraînement à la vapeur.

Réf : Référence.

AFNOR : Association Française de NORmalisation.

T : Tiges.

F : Feuilles.

HE : Huile Essentielle.

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse.

SM : Spectrométrie de Masse.

FID : Détecteur à Ionisation de Flamme.

IE : Impact Electronique.

Ir : Indice de rétention.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

FRAP : Feric Reducing Ability of Plasma.

DPPH : 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyle.

BHT : Butyl hydroxtoluene.

IC50 : Concentration d'inhibition de 50% des radicaux libres.

Abs : Absorbance.

Ex Hy : Extrait d'Hydrolat.

Mp : *Mentha pulegium*.

Mr : *Mentha rotundifolia*.

CMI : Concentrations Minimales Inhibitrices.

# Table des matières

<b>I. Introduction .....</b>	<b>1</b>
II. Généralité sur les huiles essentielles.....	1
II.1. Introduction.....	1
II.2. Intérêts des huiles essentielles.....	2
II.3. Hydrolat .....	2
<b>III. Etude bibliographique.....</b>	<b>3</b>
III.1. La famille .....	3
III.2. Le genre <i>Mentha</i> .....	3
III.2.1. Présentation botanique du genre <i>Mentha</i> .....	3
III.2.2. Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle.....	4
III.2.3. Aspects économiques des huiles essentielles de menthes.....	5
III.3. <i>Mentha pulegium</i> .....	6
III.3.1. Introduction.....	6
III.3.2. Utilisation traditionnelle .....	7
III.3.3. L'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> .....	7
III.3.4. Aspect économique de <i>Mentha pulegium</i> .....	9
III.3.5. Activités pharmacologiques .....	11
III.4. <i>Mentha rotundifolia</i> .....	11
III.4.1. Introduction.....	11
III.4.2. Utilisation traditionnel .....	12
III.4.3. L'huile essentielle de <i>Mentha rotundifolia</i> .....	12
III.4.4. Activités pharmacologiques.....	13
III.4.5. Aspect économiques de <i>Mentha rotundifolia</i> .....	14
<b>IV.Travaux envisagés.....</b>	<b>14</b>
<b>V.Analyse des mélanges complexes des volatils .....</b>	<b>15</b>
V.1. Les méthodes des préparations de l'échantillon.....	15
V.1.1. Les méthodes de distillation à la vapeur d'eau.....	15
V.1.2. Les méthodes d'identification des constituants des mélanges complexes des volatils des plantes.....	16
V.1.2.1. La chromatographie phase gazeuse CPG .....	16
V.1.2.2. Couplage chromatographie phase gazeuse/spectrométrie de masse (CPG/SM).17	
V.2. Méthodologie d'analyse .....	17
<b>VI.Résultats et discussion .....</b>	<b>20</b>
VI.1. Etude de la partie volatil de deux menthes.....	20
VI.1.1.Détermination du pourcentage en eau .....	20
VI.1.2. Préparation de l'échantillon.....	20
VI.1.3. Suivi végétatif de deux menthes .....	23
VI.1.4. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> et <i>Mentha rotundifolia</i> .....	24
VI.2. L'hydrolat.....	25
VI.3. Analyse des matrices volatils .....	25
VI.3.1. Analyses des huiles essentielles .....	25
VI.3.1.1. Huiles essentielles de <i>M. pulegium</i> .....	25
VI.3.1.2. Huiles essentielles de <i>M. rotundifolia</i> .....	26

VI.3.2. Analyses des extraits des hydrolats .....	28
VI.3.2.1. Hydrolat de <i>M. pulegium</i> .....	28
VI.3.2.2. Hydrolat de <i>M. rotundifolia</i> .....	28
VI.3.3. L'analyses des suivis végétatifs.....	28
VI.4. Activités biologiques.....	29
VI.4.1. Activités anti radicalaire et antioxydantes.....	29
VI.4.1.1. Evaluation de l'activitéanti radicalaire.....	29
VI.4.1.2. Méthode de réduction des ions ferreux FRAP .....	31
VI.4.1.3. Test de blanchissement de $\beta$ -carotène .....	32
VI.4.2. Activité antimicrobienne .....	33
VI.4.3. Tests <i>in-vivo</i> (Activité antifongique).....	35
<b>VII.CONCLUSIONS .....</b>	<b>37</b>
<b>VIII.Matériels et méthodes.....</b>	<b>39</b>
VIII.1. Préparation de l'échantillon .....	39
VIII.2. Procède d'extraction des huiles essentielles.....	39
VIII.2.1. Hydrodistillation.....	39
VIII.2.2. Calcule de rendement .....	40
VIII.2.3. Caractérisation des huiles essentielles .....	40
VIII.2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse .....	40
VIII. 2.3.2. Chromatographie en phase gazeuse- spectrométrie de masse .....	40
VIII.3. L'hydrolat.....	41
VIII.4. Activités biologiques.....	41
VIII.4.1. Evaluation de l'activité antioxydants .....	41
VIII.4.1.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH .....	41
VIII.4.1.2. Méthode de la réduction du fer FRAP.....	42
VIII.4.1.3. Méthode de blanchissement de la $\beta$ -carotène.....	42
VIII.4.2. Réalisation des activités antimicrobiennes.....	43
IX.4.3. L'activité antifongique ( <i>in vivo</i> ).....	44
<b>X. Références bibliographiques .....</b>	<b>45</b>

## I. Introduction :

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

Actuellement environ 25% des substances naturelles commercialisées sont d'origine végétale. Le nombre de plantes médicinales est estimé à environ 250 000 espèces, dont seulement quelques centaines ont fait l'objet d'une étude approfondie impliquant, la composition chimique et l'utilisation thérapeutique. Cependant, il reste toujours une grande quantité de molécules bioactives inconnues [2].

L'Algérie possède d'importantes potentialités en matière de plantes aromatiques et médicinales en raison de la flore spontanée, qui est particulièrement riche en plantes utiles telles que l'ortie, le thym, la menthe... etc. ceci est lié principalement à la diversité de son climat et à la nature de ses sols [3].

Les huiles essentielles représentent une importance économique considérable, vu leur application dans des domaines variés, allant des industries alimentaires, aux industries pharmaceutiques en passant par les industries des parfums et cosmétiques [3]. Les huiles essentielles se composent d'un certain nombre de composés de différentes origines biosynthétiques s'étendant des hydrocarbures terpénoïdes aux composés de soufre, et de tels composés sont naturellement présents dans différentes concentrations [4].

Le but de notre travail et de réaliser une étude sur la variabilité chimique des huiles essentielles de deux menthes poussant spontanément dans notre région : *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*, afin de mettre en évidence leur intérêt économique. Cette étude sera basée sur une étude comparative des compositions chimiques des deux menthes étudiées de part le monde avec ceux qui seront produites dans l'ouest algérien. En parallèle une étude détaillée sur les hydrolats sera menée. Enfin Ce travail sera complété par quelques activités biologiques afin de montrer l'importance de ces huiles dans l'industrie cosmétique, pharmaceutique et agroalimentaire.

## II. Généralité sur les huiles essentielles :

### II.1. Introduction :

Les huiles essentielle ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient au tant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes [5]. Les huiles essentielles constituent donc une source intéressante, de nouveaux composés, dans la recherche de molécules bioactives [5].

Depuis des milliers d'années, les huiles essentielles sont utilisées en cuisine, en médecine, en parfumerie... etc. La thérapie par les huiles essentielles a connu un développement progressif à travers les civilisations arabe, égyptienne, grecques... etc. Selon les normes internationales, les huiles

essentielles doivent être liquides à température ambiante, de consistance huileuse mais non grasse, leur densité inférieure à celle de l'eau à l'exception de quelques cas (cannelle, saffras et vétiver), volatiles, insolubles dans l'eau, et solubles dans les huiles végétales, dans l'éther et dans l'alcool jusqu'à un certain pourcentage, et de polarité moyenne [6].

## **II.2. Intérêts des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles sont largement utilisées pour traiter certaines maladies internes et externes (infections d'origine bactérienne ou virale, troubles humoraux ou nerveux). En médecine dentaire, plusieurs huiles essentielles ont donné des résultats cliniques très satisfaisants dans la désinfection de la pulpe dentaire, ainsi que dans le traitement et la prévention des caries [6]. Les huiles essentielles sont également utilisées pour massage, inhalation ou ingestion. En plus de leurs utilisations thérapeutiques, les huiles essentielles sont appliquées en cosmétiques (aromatisation des savons, parfumerie... etc.). En industrie alimentaire, elles sont utilisées pour avoir une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure, et pour réduire la prolifération des micro-organismes. Les huiles essentielles sont utilisées dans les aliments comme conservateurs antioxydant et antimicrobien [6].

## **II.3. Hydrolat :**

Certains hydrolats sont utilisés depuis des siècles dans des préparations cosmétiques, thérapeutiques et culinaires. Le principal marché des hydrolats se situe dans le domaine des cosmétiques et des aromes alimentaires. Cependant, avec le regain d'intérêt actuel pour les médecines alternatives telle que l'aromathérapie, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus utilisés pour leurs vertus thérapeutiques. Malgré cet engouement, les chercheurs ne s'y intéressent que très peu [5].

Traités au départ comme un déchet de la distillation des huiles essentielles, et les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus présents sur le marché des produits naturels. Les praticiens en aromathérapie les utilisent souvent en compléments d'une thérapie par les huiles essentielles. Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Leur popularité auprès des consommateurs est principalement due à leur non toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leurs faibles teneurs en principe actifs. Ils sont de ce fait beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles ce qui en fait un produit de choix pour les aromathérapeutes. Malgré cet engouement, les chercheurs s'intéressent peu aux hydrolats et à leurs potentiels thérapeutiques et il existe donc un réel manque de données fiables dans ce domaine [5].

### III. Etude bibliographique :

#### III.1. La famille :

Les Menthes (*Mentha*) désignent un genre de dicotylédones gamopétales, de l'ordre des Lamiales et de la famille des Lamiacées [3].

Les Labiées (*Lamiaceae*) constituent une vaste famille (3500 espèces environ), des angiospermes dicotylédones à fleurs gamopétales irrégulières, qui regroupent surtout les plantes herbacées et sous-arbustives. Répartie dans le monde entier, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes, elles sont rares dans les régions arctiques et en hautes montagnes [3]. Elles forment une famille exceptionnellement homogène et sont facilement usables.

Les Labiées sont caractérisées par :

- Une tige à section carrée.
- Des feuilles opposées et dentées.
- Des fleurs irrégulières : calice à cinq pétales coudés, corolle en tube se terminant par deux lèvres écartées, quatre étamines (deux grandes et deux petites) ; ovaire à quatre loges, chacune un ovule.

#### III.2. Le genre *Mentha* :

##### III.2.1. Présentation botanique du genre *Mentha* :

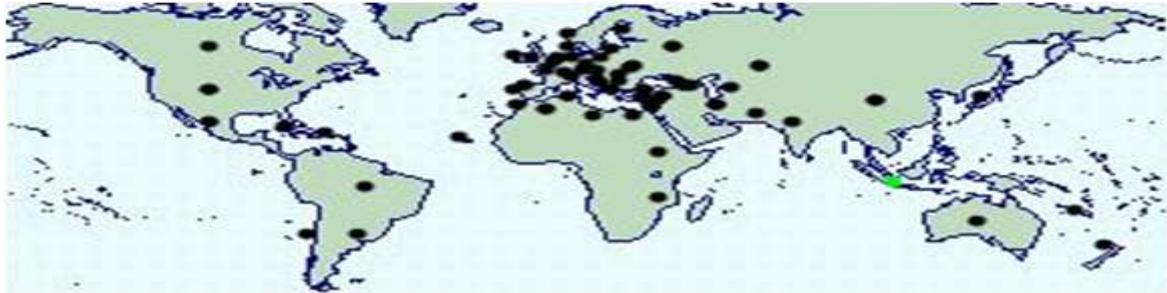
Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des Lamiacées [7]. Autant les Menthes sont faciles à reconnaître à leur odeur tout à fait caractéristique, autant elles sont difficiles à distinguer les unes des autres, en raison des formes intermédiaires, d'origine hybride, qui les relie. Parmi toutes les labiées, les Menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à quatre lobes presque égaux et leurs quatre étamines également presque égales [7].

Les menthes ne dépassant pas 1 m, à tiges quadrangulaires, à feuilles pétiolées ou sessiles, arrondies ou ovales, plus ou moins dentées, à fleurs presque régulières mauves, roses ou blanches. Les quatre parties des fruits sont ovoïdes, parfois verruqueuses, l'odeur est forte et agréable, plus ou moins fine, à tiges fortifiées terminées par les fleurs inflorescences en tête arrondie [3].

Ce sont des plantes peu exigeantes et se répandent rapidement quand elles sont dans un sol sableux, humifère et frais, et peuvent former des tapis aromatiques très décoratifs. Au soleil, elles charmeront également tous les insectes butineurs [3]. Les menthes sont très complexe en raison des nombreuses hybridations entre espèces, aboutissant à de nombreuses sous-espèces. Il y a plus d'une quarantaine de variétés. Certaines espèces sont cultivées, d'autres poussent à l'état sauvage [8].

Il existe de nombreuses espèces de menthe sauvage dont certaines, telles *M. pulegium* et *M. rotundifolia*, poussent spontanément en Algérie. Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie [9].

La plupart des menthes sont originaires de l'Europe et de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les menthes sont présentes sur la quasi-totalité des continents (Figure 1) [10].



**Figure 1 :** ● Aire de répartitions des menthes dans le monde.

### III.2.2. Utilisations des menthes dans la pharmacopée traditionnelle :

La menthe a été utilisée depuis fort longtemps en nature et pour son huile essentielle. Elle est réputée pour ses propriétés aromatiques (toniques, fortifiantes) et digestives (utilisée pour combattre les lourdeurs, les ballonnements et les gaz). Les menthes doivent leurs odeurs et leurs activités à leurs huiles essentielles qui ont une place particulière dans l'ensemble des produits aromatiques d'origine végétale; grâce à certaines propriétés spécifiques, les besoins en produits de la menthe sont multiples, tant pour leur flaveur (aromatization) que pour leurs odeurs (parfumerie), leur pouvoir rafraîchissant ou leurs propriétés médicinales [10].

Les Menthes conservent depuis l'antiquité une diversité infinie d'emplois et occupent une large place dans la thérapeutique. Elles fortifient tout le système des nerfs. Stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses. Sur le plan des principes chimiques, la plupart des espèces de menthes doivent leur odeur et activité à leurs huiles essentielles ou essences de Menthe. Ces essences très odoriférantes ont un intérêt industriel important [7].

La menthe est l'une des plantes médicinales les plus connues. Les archéologues ont retrouvé des feuilles de menthe dans des tombes égyptiennes. Son usage est avéré chez les Grecs et les Romains pour soulager la douleur ou purger les malades. Depuis lors, elle a été l'une des premières plantes à être utilisées de manière intensive par l'industrie pharmaceutique. Le menthol est ainsi devenu un des classiques des étals de pharmacie. On retrouve aussi la menthe dans un grand nombre de bonbons, sirops ou comme une saveur destinée à améliorer le goût de certains médicaments [11] [12].

**Tableau 1 :** Noms communs et usage de *M. pulegium* et *M. rotundifolia*.

Famille	Nom Scientifique	Nom Français	Nom vernaculaire	Partie utilisée	Usages
Labiées	<i>Mentha pulegium</i>	Menthe pouliot	Fliou	Partie aérienne	A, F, M
Labiées	<i>Mentha rotundifolia</i>	Menthe rouge	Timarssat, Doumrane	Feuille, Tige	A, F, M

F : Alimentaire      M : Médicinal      A : Aromatique

### III.2.3. Aspects économiques des huiles essentielles de menthes:

Les huiles essentielles sont utilisées largement dans l'agroalimentaire et la parfumerie et, en plus petites quantités, dans le secteur des cosmétiques et dans celui de la santé, dans des préparations pharmaceutiques, la phytothérapie et l'aromathérapie. L'industrie alimentaire consomme environ 60 % de la production des huiles essentielles et le reste est utilisé en parfumerie. Environ 300 huiles essentielles entrent couramment dans la fabrication des parfums et des arômes alimentaires, notamment les huiles essentielles de citron, de menthe et de romarin [13].

De nos jours, environ 150 huiles essentielles sont couramment commercialisées contre 300 il y a 50 ans. La première huile essentielle mondiale en tonnage est l'huile essentielle d'orange, laquelle est un sous-produit de la production du jus d'orange puisqu'extraite de la peau d'orange par pression à froid. Elle est produite à hauteur de plus de 50 000 tonnes, principalement issue du Brésil et de la Floride (USA), représentant à eux deux près de 90 % du volume total commercialisé. Vient ensuite la menthe (*Mentha arvensis*) dont la production est estimée à 32 000 tonnes, puis les huiles essentielles d'eucalyptus (4 000 tonnes), et de menthe poivrée (3 300 tonnes) [14].

La production mondiale d'huiles essentielles a récemment été estimée à plus de 110 000 tonnes. Néanmoins, les trois huiles essentielles les plus vendues dans le monde représentent près de 90 % de ce volume total, avec deux grands groupes : les agrumes et les menthes [14].

Le Brésil est le premier producteur mondial d'huiles essentielles en termes de volumes, le deuxième étant vraisemblablement l'Inde pour sa production d'huile essentielle de menthe développée notamment au nord de Delhi. L'Inde a d'ailleurs repris le leadership de cette production au détriment de la Chine [14].

Toutes les huiles essentielles et les composantes chimiques qu'on y trouve naturellement sont dérivées de récoltes saisonnières et sont produites à travers le monde. Le climat, la géopolitique et les conditions du marché peuvent affecter le prix dramatiquement et provoquent parfois une grande volatilité. Certaines huiles essentielles peuvent être manufacturées pour certains composés aromatiques qui peuvent être isolés, alors que d'autres sont simplement conservées intactes et vendues comme un produit [15].

Les huiles essentielles de menthe font parties des huiles les plus produites dans le monde dont la valeur commerciale s'élève à plus de 400 millions de \$US/an [16]. Les États-Unis occupent une position dominante et sont les plus gros producteurs d'huile essentielle de menthe, suivi par l'Inde et la Chine. *Mentha canadensis* est à l'origine de l'huile essentielle de « cornmint » (>15 000 tonnes/an) qui est la plus grande source de (-)-menthol; *M. piperita* donne l'huile essentielle de « peppermint » (> 3 500 t/an) composée de menthol, de menthone et d'acétate de menthyle; *M. spicata* ssp. *spicata*, *M. viridis* (native spearmint) et *M. gracilis* (scotch spearmint) sont la source d'huiles essentielles riches en carvone; *M. citrata* est une source de linalol et d'acétate de linalyle. Certaines menthes très répandues mais qui présente un intérêt commercial plus limité : *M. pulegium* est à l'origine de l'huile essentielle « pennyroyal » riche en pulégone et l'huile essentielle de *M. aquatica* est dominée par le menthofurane. La valeur commerciale des huiles essentielles de menthes, leurs facilités de propagation et de clonage, a poussé les recherches vers une meilleure connaissance des voies de biosynthèse des monoterpènes caractéristiques des menthes [16].

En Algérie, la cueillette de plantes aromatiques et médicinales pour en extraire des huiles essentielles destinées à la fabrication des produits cosmétiques et pharmaceutiques ainsi que des arômes pour produits alimentaires n'est pas très répandue. Pourtant, l'Algérie dispose d'une vaste étendue de forêts et de champs où l'on peut s'approvisionner d'une bonne variété de plantes. Malheureusement, l'intérêt est peu manifeste y compris de la part des connaisseurs. Pourtant, leurs bienfaits sont nombreux, notamment sur la santé (antiseptique, bactéricide, immunostimulante, décongestionnante, etc.) [17].

### III.3. *Mentha pulegium* :

#### III.3.1. Introduction :

*Mentha pulegium* (Linné, 1753). Appelée *Menthe pouliot*. Famille des Lamiacées (*Lamiaceae*) ou Labiées (*Labiatae*), vivace, pubescente, couchée, parfois dressée de petite taille à taille moyenne (10 à 30 cm de haut, 45 de large) radicante, généralement poilue, à tiges florifères dressées, fortement aromatique à odeur piquante avec des petites feuilles étroites elliptiques à ovales, à peine dentées, à pétiole court, souvent poilues au revers avec des bractées foliacées [12]. Elle possède des fleurs lilas, de 4,5 à 6 mm de long, qui apparaissent l'été, de juillet à fin septembre, parfois rose et d'autres fois blanches échelonnées le long de la tige. Ses corolles ont 4 lobes presque égaux et 4 étamines saillantes, en verticilles denses, très espacés mais pas en capitule terminal (sommet de la tige non fleuri). Elle possède des verticilles à l'aisselle des feuilles supérieures et moyennes avec un calice velu, nettement cannelé, poilu dans la gorge, les 2 dents inférieures plus étroites. Sa floraison étant de juillet à octobre [12].

Elle est toxique à forte dose et peut provoquer l'avortement. cette plante a aussi la particularité d'être insecticide puisqu'elle a été déjà utilisée pour faire éloigner les insectes [1].

*M. pulegium*, très répandue dans l'aire méditerranéenne, est connue sous le nom de « menthe pouliot – Fliou en berbère ». Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques. C'est une espèce spontanée dans l'ensemble de l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte) [16] .

Règne:	Plantae.
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida.
Ordre :	Lamiales.
Famille :	<i>lamiaceae</i> .
Genre :	<i>Mentha</i> .
Nom scientifique :	<i>Mentha pulegium</i> L.1753.
Nom vernaculaire :	Fliou.
Saveur :	Citron piquante.
Floraison :	Juillet à fin septembre.
Distribution et habitat :	Europe, l'ouest de l'Asie, le nord de l'Afrique, l'Amérique.
La hauteur de la plante :	10 à 30 cm.



**Figure 2:** Représentation schématique et photo de la *Mentha pulegium*.

### III.3.2. Utilisation traditionnelle :

*Mentha pulegium* est utilisée pour ces actions carminatives, diaphorétiques, stimulantes et emménagogues, et elle est principalement utilisée contre les désordres provoqués par le froid ou le froid soudain. Elle est également salutaire dans les cas des spasmes, hystérie, flatulence et elle est utilisée pour chauffer l'estomac [18].

L'huile essentielle de la menthe pouliot est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à la digestion et à soulager la dyspepsie flatulente et les coliques intestinaux [19].

- Inflammations aiguës ou chroniques des muqueuses avec hypersécrétion des glandes de la région enflammée.
- Expectorante, calme la toux, utilisée pour la sphère respiratoire (tropisme sphère rhinopharyngée et les poumons), contre les bronchites, les rhumes et les sinusites (en nettoyant toute la sphère digestive), ainsi que contre les troubles digestifs et l'insuffisance biliaire.
- Elle est également utilisée pour provoquer les règles ou pour soulager les règles douloureuses [19].

### III.3.3. L'huile essentielle de *Mentha pulegium* :

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. est caractérisée par la prépondérance du pulégone (70-90%) accompagnée d'autres cétones monoterpéniques : isomenthone, menthone et pipéritenone [1].

La composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* a fait l'objet de nombreuses publications. En somme, nous dénombrant 51 références bibliographiques qui étudient les huiles de la menthe pouliot dans le monde. Elles sont caractérisées par la présence majoritaire de cétones possédant un squelette menthanique. En effet, et à titre d'exemple, les compositions décrites sont dominées soit par la pulégone (70-90%) en Algérie [1] [20] [21], au Maroc [22] [23] [24] [25], en Inde [26], en Uruguay [27], au Portugal [28] ou en Turquie [29] ; soit par la pipéritenone (83,7-97,2%) en Grèce [30] ou encore la pipéritone (70,0%) en Autriche [31].

Le Tableau 2 recense tous les travaux réalisés sur la composition chimique des huiles essentielles de *M. pulegium* dans le monde, en plus des localités, des composés majoritaires et leur mode d'extraction.

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

**Tableau 2 :** Bibliographie des huiles essentielles de *Mentha pulegium* dans le monde.

N°	Pays	Année	Réf.	Méthodes	% Composés majoritaires
1	Maroc	2003	[22]	HD	Pulégone (80.3%)
2		2010	[32]	HD	Pulégone (6.45%), pipéritone (35.56%), pipéritenone (21.18%), $\alpha$ -terpineol (10.89%)
3		2011	[23]	EV	Pulégone (70%)
4		2012	[24]	HD	Pulégone (73.33%), menthone (8.63%)
5		2013	[33]	HD	Pulégone (68.86- 81.46%), pipéritenone (24.79% - 26.04%)
6		2014	[34]	EV	Pulégone (33.65%), $\alpha$ -terpinenylacetate (24.29%)
7		2015	[25]	EV	Pulégone (80%), limonène (1.3-1.5%), menthone (1.3-2.3%), pipéritone (6.5-8.16%)
8	Grèce	1995	[35]	HD	Pulégone (44.7%)
9		2000	[36]	HD	Pipériténone(32.8-75.8%/5.1-35.0%)
10		2002	[30]	HD	Pipériténone (83.7-97.2%)
11		2004	[37]	HD	Pulégone (<0.1-90.7%), pipéritone non détecté (97.2%) , menthone(<0.2-53.4%), isomenthone (<0.1-45.1%), pipéritenone (<0.1-39.8%), isopiperitenone non détecté (23.5%)
12		2004	[37]	HD	Isomenthone (32.8-75.8%/4.3-28.6%)
13	Feuille - Tige	2007	[38]	HD	Pulégone (32.8 %, T1 - 75.8 %, F3), pipéritenone (5.1 %, F3 -35 %, F2), isomenthone (4.3 %, F2 - 28.6 %, F3), pipéritone (0.5 %, F3 -5.2 %, F2)
14		2009	[39]	HD	Pulégone (>50%)
15	Algérie	2007	[20]	EV	Pulégone (43.3-87.3%)
16	Jijel (Algérie)	2007	[21]	HD	Pulégone (87.3%)
17	Oran (Algérie)	2010	[1]	HD	Pulégone (70-90%)
18	Sétif (Algérie)	2011	[40]	HD	Pulégone (38.8%), menthone (19.2%), Pipériténone (16.5%)
19	South East Algérie	2015	[41]	HD	Pulégone (46.31%), Pipériténone (23.3%), menthone (6.2%), limonène (4.7%)
20	Portugal	1952	[28]	HD	Pulégone (83%)
21		2007	[16]	HD	Pipériténone (35.1/27.4%)
22		2012	[42]	HD	Menthone (35.9%), Pulégone (23.2%), Neoisomenthol (9.2%)
23		2013	[43]	HD	Pulégone (52-82%), isomenthone (2-36), menthone (0.1-17%), Pipériténone (1-15%)
24	Turquie	1999	[44]	HD	Isomenthone (32.1-43.8%/41.7-52.0%), menthone(26.6-57.3%/25.159.1%)
25		1997	[45]	HD	1,8-cineole, Pulégone
26		2012	[29]	HD	Pulégone (71.47%), menthone (7.67%)
27		2012	[46]	HD	Pulégone (34.6%), Pipériténone (31.4%), isomenthone (17.9%), pipéritone (9.7%)

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

				EV	Isomenthone (42.1 %), Pulégone (28.9 %), pipéritenone (11.8 %), pipéritone (11.6 %).
28	Iran	2004	[47]	HD	Menthone (37.8-20.3%)
29		2008	[48]	HD	Pipéritone (38.0%), pipéritenone (33.0%), $\alpha$ -terpineol (4.7%), Pulégone (2.3%)
30		2014	[49]	HD	Pulégone (46.18%), Pipériténone (19.56%), 1.8-cineole (4.55%), oxyde de Pipériténone (4.23%)
31		2015	[50]	HD	Pulégone (19.89%), cineole (19.38%), Pipériténone (15.14%)
32	Tunisie	2007	[51]	HD	Pulégone (41.8%), Isomenthone (11.3%), Carvone (6.2%)
33		2008	[52]	HD	monoterpène hydrocarboné oxygène
34		2009	[53]	HD	Pulégone (61.11%), isomenthone (17.02%), Pipéritone (2.63%)
35	Brésil	2005	[54]	HD	Pulégone
36		2015	[4]	HD	Pulégone (50.01%), menthol (31.90%), menthone (16.56%)
37	Bulgarie	2005	[55]	HD avec EV	Pulégone (42.9-45.4%), pipéritenone (21.7-23.1%), isomenthone (11.3-12.8%)
38		2005	[55]	HD	Pipériténone(27.2-49.7%/19.4-57.7%)
39	Inde	1964	[26]	HD	Pulégone (73.46%), isopulegone (5.25%)
40		2005	[56]	HD	Pulégone (65.9-83.1%), Menthone (8.3-8.7%)
41	Japon	1967	[57]	HD	Menthone (50.5/26.4%)
42	Suisse	1968	[58]	HD	Isomenthone (20.0-34.6%/18.9-42.1%)
43	Australie	1971	[31]	EV	Pipéritone (70%), limonène (11%), menthone (8%), isomenthone (7%)
44	Autriche	1971	[31]	HD	Pipéritone (70.0%), menthone (8.0%)
45	Italie	1977	[59]	HD	Pulégone (50.1%), menthone (25.0%), isomenthone (20.7%)
46	Espagne	1978	[60]	HD	Pulégone (79.4%), menthone(16), isomenthone (8.6)
47	Cuba	1996	[61]	HD	Neoisomenthol (20.68%), Pulégone (25.14%)
48	Yougoslavie	2000	[62]	EV	Menthone (30.9%), Pulégone (14.1%), Neoisomenthol (13.8%)
49	Uruguay	2002	[27]	HD	Pulégone (73.4%), isomenthone (12.9%)
50	Egypte	2006	[63]	HD	Pulégone (43.5%), pipéritone (12.2%)
51	France	2011	[16]	HD	Pulégone (87.7%), pipéritenone (2.9%), menthone (1.7%)

HD : Hydrodistillation.

EV : Entraînement à la vapeur.

### III.3.4. Aspect économique de *Mentha pulegium* :

Les huiles essentielles sont valorisées principalement sur les marchés de l'aromathérapie, de la parfumerie et de la cosmétique. Elles peuvent, soit rentrer dans la composition de produits plus élaborés (crèmes, parfums, bougies,...), soit être utilisées en l'état. Elles sont recherchées pour leurs propriétés odorantes ou thérapeutiques [64].

Parmi les plantes couramment utilisées dans la production des huiles essentielles et extraits aromatiques au Maroc et en France on trouve : la menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*) ( tableau 3) [64].

## ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Le prix des huiles essentielles varie beaucoup en fonction de la rareté, du procédé utilisé pour l'extraction, de l'origine et de la qualité [65].

**Tableau3** : Aspect économique de *Mentha pulegium*.

Pays d'origine	Réf	Quantité (ml)	Prix	Composes majoritaires
France	[66]	10	4.57\$	
		25	9.80\$	
		50	16.56\$	
		100	27.37\$	
		250	56.88\$	
		500	96.18\$	
		1000	159.85\$	
Maroc	[67]	5	9.34€	Pulégone, pipéritone, isopulegone, menthone
	[68]	10	5.80€	Pulégone
	[69]	10	3.99\$	Pulégone, menthone, pipéritone, pinène, limonène
		50	10.00\$	
		100	16.99\$	
		500	39.40\$	
		1000	70.50 \$	
	[70]	10	6.30€	Pulégone
	[71]	10	7.40€	Pulégone (75%), limonène (2%)
	[72]	10	6.33€	
<b>Albanie</b>	[73]	10	6.35	Pulégone (80%)

A noter qu'une huile essentielle de *Mentha pulegium* pour quelle soit mieux valorisée, elle doit être 100 % pure et naturelle, non diluée et non rectifiée, d'une couleur jaune pâle et d'une odeur forte [19]. Enfin, les huiles essentielles riches en pulégone sont potentiellement toxiques (le pulégone est considéré comme une molécule allergène), et strictement réservées aux aromathérapeutes professionnels (Évitez toute forme d'auto médication avec ces huiles essentielles) [74].

### III.3.5. Activités pharmacologiques :

L'huile essentielle de menthe pouliot manifeste des activités antibactériennes et antioxydantes. Il y'a des études des propriétés pharmacologiques d'une huile de *Mentha pulegium* récoltée au Brésil, Maroc, Iran, Egypte, Portugal, Grèce, Turquie et Algérie, assez riche en monoterpènes oxygénés. La concentration en Pulégone est très variable suivant le lieu de la récolte, la saison de la récolte (l'hiver le pulégone est moins abondant) et le régime de stress auquel la plante a été soumise [4] [23] [40] [42] [48] [63].

### III.4. *Mentha rotundifolia* :

#### III.4.1. Introduction :

La menthe à feuilles rondes ou *Mentha rotundifolia* est une plante vivace, que l'on trouve fréquemment au bord des chemins, dans les fossés ou autres lieux humides ; elle appartient à la famille des labiées. Elle ne pose pas de problème de détermination en raison de la forme de ses feuilles rondes, épaisses et ridées avec des tiges, typiques des labiées, est à section carrée. L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher ; comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle la pomme [7]. Les petites fleurs sont rassemblées en épis terminant les rameaux. La hauteur de la plante est de 25 à 80 cm, avec une fleur de 5 mm de long [7] . La floraison est de juillet à septembre [3].

Les menthes s'hybridant avec une grande facilité, de nombreux hybrides sont créés en horticulture [12]. *Mentha rotundifolia*, dont le nom vernaculaire est Timarssat en berbère ou Doumrane en arabe, est un hybride de *Mentha longifolia* et de *Mentha suaveolens* [27], alors que d'autres références disent que *Mentha rotundifolia* et *Mentha suaveolens* correspondent à la même espèce [9].

Règne:	Plantae.
Division :	Magnoliophyta
Classe :	Magnoliopsida.
Ordre :	Lamiales.
Famille :	<i>Lamiaceae.</i>
Genre :	<i>Mentha.</i>
Nom scientifique :	<i>Mentha rotundifolia.</i>
Nom vernaculaire :	Timarssat, Doumrane, Chachatro.
Saveur :	Pomme.
Floraison :	Juillet à septembre.
Distribution et habitat :	Europe, l'ouest de l'Asie, le nord de l'Afrique, l'Amérique.
La hauteur de la plante :	25 à 80 cm.
Hybride :	<i>Mentha longifolia</i> et de <i>Mentha suaveolens</i>



**Figure 3:** Représentation schématique et photo de la *Mentha rotundifolia*.

### III.4.2. Utilisation traditionnelle :

Dans certaines régions du Maroc, *Mentha rotundifolia* est utilisée en médecine traditionnelle pour ses propriétés digestive, antiseptique, expectorante, antispasmodique et tonique en hiver [2].

#### D'une utilité interne :

- Fébrifuges: Afin d'augmenter la sudation et pour descendre la fièvre (infusion faite avec ses feuilles).
- Tranquillisants : Afin de calmer les palpitations cardiaques (eau chaude avec des gouttes de son essence).

#### D'une utilité externe :

- Tranquillisants : Pour des douleurs rhumatismales et des piqûres d'insectes [75].

### III.4.3. L'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* :

La composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* poussant dans diverses parties, du monde a fait l'objet de beaucoup moins d'études comparées aux autres menthes. En totale, nous dénombrant 19 références bibliographiques traitant de la composition chimique de *Mentha rotundifolia*.

Ces travaux démontrent que les huiles sont caractérisées par une forte variabilité chimique, ou les composés majoritaires changent radicalement d'un pays à un autre, voir même au sein d'un même pays. En somme ces travaux rapportent comme composés majoritaires : le pulégone, le menthol, l'oxyde de pipériténone, la carvone... etc.

A titre d'exemple, le pulégone était caractérisé comme le composé majoritaire avec un pourcentage qui dépasse les (30%) en Maroc et en Tunisie [2][76], soit par l'oxyde de pipériténone (80.8%) en Uruguay [77] et (85.1-1.3%) en Japon [78].

Le Tableau 4 recense tous les travaux réalisés sur la composition chimique des huiles essentielles de *M. rotundifolia* dans le monde, en plus des localités, des composés majoritaires et leur mode d'extraction.

**Tableau 4** : Bibliographie des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* dans le monde.

N°	Pays	Année	Méthode	Réf	% Composés majoritaires
1	Maroc	2003	HD	[2]	Pulégone (85%)
2		2010	HD	[79]	Menthol (40.50%), menthone (5.0%), acétate de menthyle (4.50%), menthofurane (4.20%), oxyde de pipéritone (3.80%)
3		2015	HD	[80]	Pulégone (69.1%) and menthone (18.5%)
4	Japon	1956	HD	[81]	Cétone (Rotundifolone)
5		1957	HD	[82]	Rotundifolone
6		1985	HD	[78]	Oxyde de Pipériténone (85.1-1.3%), oxyde de pipéritone (6.8-52.0%)
7	Grèce	2004	HD	[37]	Oxyde de pipéritone, acétate de méthyle
8		1990	HD	[83]	Rotundifolone (10.4%), piperitol (57.6%)
9		1988	HD	[84]	Oxyde de pipéritone, acétate de méthyle
10	Algérie	2006	HD	[85]	Oxyde de Pipériténone (23.5-38.6%), oxyde cis-pipéritone (28.1-30.5%)
11		2007	EV	[9]	Pipériténone (54.9%), oxyde de Pipériténone (17.6%)
12	China	1985	HD	[78]	oxyde de pipéritone, oxyde de pipéritone, 1,2-époxy neomenthyle
13		2013	HD	[86]	Cis-jasmone (36.77%), germacrene D (11.89%), $\beta$ -ocimene (10.51%), viridiflorol (8.20%).
14	Tunisie -Beja -Bizerte site	2013	HD	[76]	B-caryophyllene (26.67%), germacrene D (12.31%), carveol (7.38%)  Pulégone (32.09%), oxyde de Pipériténone (17.28%), 5-acetylthiazole (11.26%)
15	Uruguay	2002	HD	[77]	Oxyde de Pipériténone (80.8%)
16	Cuba	1999	HD	[87]	2,4 (8), 6-p-menthatrien-2,3-diol (14.5%), germacrene D (12.4%).
17	Romania	2014	EV	[88]	Carvone (51.79-73.56%)
18	Palestine	2000	EV	[89]	Isomères du 1,2-époxy menthyle acétate (74%), pipéritone (13%)
19	Espagne	1990	HD	[90]	Rotundifolone (10.4%) et piperitol (57.6%)

HD : Hydrodistillation.

EV : L'entraînement à la vapeur.

### III.4.4. Activités pharmacologiques :

Il y'a des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* qui sont riches en oxyde de pipéritone. Ce monoterpène oxygéné possède des effets biologiques très intéressants. Il présente des effets cardiovasculaires (activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), une activité sur les centres nerveux sympathiques (relaxant, stimulant, dépressant), des propriétés antibactériennes et antifongiques. L'oxyde de pipéritone est également intéressant pour la synthèse des hétérocycles, de pyrazoles, de pyrazolines et d'alcools allyliques [85].

### III .4.5. Aspect économique de *Mentha rotundifolia* :

*Mentha rotundifolia*: possède une forte odeur de menthe, très parfumée, qui la rend particulièrement adaptée à la préparation de boissons rafraîchissantes, tels que le sirop de menthe. Parmi les menthes les plus appréciées par les clients [91] .

Elle est vendue sous forme de plante en Angleterre et en Egypte avec des différences de prix importants :

Angleterre → 41.50 EUR (100g sèche) [92].

Egypte → 1.6 EUR (5g sèche) [93].

A noter que nous n'avons trouvé aucune référence fais on rapport de commercialisation d'une huile essentielle de *Mentha rotundifolia*. C'est probablement du à sa forte variabilité. Néanmoins la plante est commercialisée en vrac.

## IV. Travaux envisagés :

Sur la base de notre recherche bibliographique, qui a montré l'intérêt économique mondial porté aux huiles essentielles des menthes, notre travail rentre dans le cadre de l'étude et la valorisation des plantes aromatiques à intérêt économique de l'ouest algérien. Dans cette optique, nos objectifs seront d'étudier la variabilité chimique des huiles essentielles de *M. pulegium* et *M. rotundifolia* de nos différentes régions de l'ouest algérien, ainsi qu'une discussion de leur intérêt commercial, en comparant leurs compositions chimiques avec celles produites, voir commercialisées dans le monde. En plus, nous étudierons la composition chimique des hydrolats, des deux menthes, ainsi que la mise au point des activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et antifongique) de ces deux matrices volatiles.

## V. Analyses des mélanges complexes des volatils :

### V.1. Les méthodes de préparation de l'échantillon :

De manière générale, l'extraction des huiles essentielles préalable à l'analyse chimique se compose de deux étapes : l'extraction et l'analyse. Alors que l'étape analytique requiert en général quelques minutes, l'étape d'extraction nécessite plusieurs heures. C'est le cas de la méthode de Clevenger, inventée en 1928 (Clevenger, 1928), qui est la procédure de distillation de référence. Cette technique est basée sur l'immersion d'un échantillon solide dans l'eau portée à ébullition. Bien que très efficace et largement acceptée par la communauté scientifique, la distillation selon Clevenger présente néanmoins plusieurs inconvénients. Les plus significatifs sont les longues procédures d'extraction requises et les grands volumes d'eau consommés [94].

#### V. 1.1. Les méthodes de distillation à la vapeur d'eau :

La technique d'extraction des huiles essentielles, utilisant l'entraînement des substances aromatiques grâce à la vapeur d'eau tel que recommande par l'AFNOR, est de loin la plus utilisée à l'heure actuelle. Les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe : l'entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion et l'hydrodistillation.

Pour notre part, nous avons utilisé l'hydrodistillation avec un montage de type Clevenger pour récupérer nos huiles essentielles.

#### L'hydrodistillation :

C'est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle [95] et pour le contrôle de qualité [96]. Le matériel végétal est immergé directement dans un alambic rempli d'eau placé sur une source de chaleur. L'ensemble est porté à ébullition. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont entraînées par la vapeur d'eau créée [97].

Les vapeurs hétérogènes sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau (sauf quelques rares exceptions), elle surnage au-dessus de l'hydrolat [97].

La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage de la phase aqueuse obtenue lors de la décantation. Le principe de recyclage est communément appelé cohobage. A l'échelle du laboratoire, le système utilisé pour l'extraction des huiles essentielles en accord avec la pharmacopée européenne est le <<Clevenger>> [97] [98].



**Figure 4** : Montage d'un hydrodistillateur type Clevenger.

### **V.1.2. Les méthodes d'identification des constituants des mélanges complexes des volatils des plantes :**

Les huiles essentielles sont des matières premières pour les secteurs de l'industrie pharmaceutique, de l'agroalimentaire et de la cosmétique. La connaissance parfaite de la composition chimique de ces substances permettrait aux professionnels des secteurs précités de pouvoir contrôler leur qualité et de les valoriser. L'identification des composants d'une HE reste une opération délicate qui nécessite la mise en œuvre de plusieurs techniques qui sont dans certains cas complémentaires [99].

La technique incontournable pour individualiser les constituants d'un mélange reste la chromatographie en phase gazeuse (CPG). Son couplage à un détecteur à ionisation de flamme (FID) permet la quantification des constituants et le calcul de leurs indices de retentions. La CPG est souvent combinée avec une technique d'identification spectrale, généralement la Spectrométrie de Masse (SM) [100].

#### **V. 1.2. 1. La Chromatographie Phase Gazeuse CPG :**

La CPG est une méthode de séparation mais aussi d'analyse. En effet, les temps de rétention peuvent donner une information sur la nature des molécules et les aires des pics fournissent une quantification relative. Depuis peu de temps, la quantification relative par CPG est remise en cause. En effet, l'utilisation des détecteurs les plus répandus à ionisation de flamme (DIF) et/ou de spectrométrie de masse (SM), ne donnent pas un facteur de réponse unique. Pour certaines familles de composés chimiques, il peut y avoir une erreur relative pouvant atteindre 60% [101]. En effet, le squelette et surtout la composition élémentaire des constituants organiques influent sur le facteur de réponse. Ainsi des méthodes de quantifications réelles avec étalons interne et externe qui sont quasiment les seuls utilisés aujourd'hui et développées pour répondre aux exigences de la pharmacie, la cosmétique, l'agro-alimentaire et surtout le domaine de la recherche scientifique [101].

L'identification d'une substance peut être facilitée par la connaissance de son temps de rétention qui est une valeur caractéristique pour une phase stationnaire donnée. En effet, les temps de rétention de chaque composé dépendent des conditions expérimentales (nature et épaisseur de la phase stationnaire, programmation de la température, état de la colonne, etc.).

Une meilleure information peut être obtenue grâce à l'utilisation des indices de rétention, mesurés sur les colonnes apolaire et polaire, qui sont plus fiables que les temps de rétention.

La CPG est préférentiellement utilisée dans le cas des molécules volatiles comme celles qui sont présentes dans les huiles essentielles (mono et sesquiterpènes, certains diterpènes, phénylpropanoïdes, molécules linéaires...).

Bien que la CPG reste l'une des techniques d'analyses les plus utilisées, l'identification des constituants d'une huile essentielle est difficilement réalisable uniquement par CPG. En effet, le temps de rétention, propre à chaque composé qui dépend des conditions opératoires (nature de la phase stationnaire, programmation de la température, vieillissement de la colonne, etc.), ne représente pas une base suffisante pour une identification.

## **V. 1.2.2. Couplage Chromatographie Phase Gazeuse/ 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 [102].

## **V. 2. Méthodologie d'analyse :**

Le Laboratoire de Chimie des Produits Naturels (CPN) de l'Université de Corse, avec lequel nous avons une collaboration et développant nos travaux en commun, a mis en place une méthodologie d'analyse des volatils considérée comme l'une des plus performante dans le secteur. Ainsi l'identification des constituants d'une huile essentielle ou de la fraction volatile extraite d'une matrice d'origine végétale est réalisée par des techniques d'analyses conventionnelles. Celle-ci est basée sur l'utilisation conjointe de la CPG/Ir et de la CPG/SM-IE.

Le mélange complexe des volatils (fractionné ou non dans le cas des huiles essentielles) est analysé simultanément par CPG/Ir et CPG/SM-IE. Le calcul des Ir, polaires et apolaires, et la quantification des composés s'effectuent par CPG/Ir. L'analyse par CPG/SM permet d'obtenir les spectres de masse des divers constituants qui, à l'aide d'un logiciel, sont ensuite comparés à ceux répertoriés dans des bibliothèques, dont une élaborée au laboratoire et les autres, commerciales, en éditions traditionnelles ou informatisées (Jennings et Shibamoto [103][47], Joulain [104][105], Wiley [106][107], Adams [108] et Nist [109]). A fin de rendre performante l'identification, il est préconisé de posséder une bibliothèque riche mais surtout adaptée au domaine d'investigation[110]. La bibliothèque « Arômes » construite au laboratoire, est élaborée à partir de spectres de masse enregistrés dans les mêmes conditions opératoires que celles utilisées pour l'analyse des mélanges complexes, assurant ainsi une fiabilité accrue dans l'identification. Elle contient actuellement les indices de rétention sur deux colonnes de polarité différentes et les spectres de masse de plus de 1100

## ANALYSES DES MELANGES COMPLEXES DES VOLATILS

composés volatils dont plus de 800 molécules terpéniques. Cette bibliothèque a été constituée à partir de molécules disponibles dans le commerce et elle est enrichie continuellement par des molécules isolées par fractionnement à partir des huiles essentielles ou encore obtenues par héli-synthèse et dans tous les cas, identifiées par RMN.

Chaque proposition du logiciel de comparaison des spectres de masse est assortie d'une note de concordance qui reflète la validité de la structure proposée. Si la note de concordance est correcte, les indices de rétention du constituant proposé sont comparés à ceux présents dans la bibliothèque élaborée au laboratoire, ou dans les bibliothèques commerciales (Jennings [103] Joulain [104][105], Adams[108]) ou encore répertoriés dans la littérature. Toutefois, se limiter à la note de concordance n'est pas suffisant; il faut systématiquement procéder à l'examen du spectre de masse du composé recherché afin d'en tirer les principales informations : masse de l'ion moléculaire, fragmentations caractéristiques ou encore mise en évidence de co-élutions. A ce stade, trois approches différentes (**a**, **b**, et **c**) sont envisagées (**Figures 5 et 6**) :

\*(**a**), le spectre de masse du constituant et ses indices de rétention correspondent à ceux d'un composé présent dans la bibliothèque élaborée au laboratoire. L'identification du constituant est réalisée sans ambiguïté. Cette démarche est systématiquement mise en œuvre quelque soit la nature du mélange complexe (huile essentielle, extrait au solvant ou fraction volatile extraite par MEPS).

\*(**b**), les données spectrales et les indices de rétention du constituant ne correspondent à ceux d'aucun composé de la bibliothèque du laboratoire mais correspondent à ceux d'un composé présent dans les bibliothèques commerciales (ou dans la littérature). Dans ce cas nous vérifions, par l'étude des fragmentations principales, si le spectre de masse du produit proposé est bien en accord avec la structure de ce dernier. Cette approche mécanistique peut être complétée, lorsque cela s'avère possible, soit par une étape d'héli-synthèse suivie de l'exploitation de l'analyse du composé synthétisé, soit par le recours à la RMN 13C dans le cas de l'analyse d'une huile essentielle.

\*(**c**), les données spectrales et les indices de rétention du constituant ne correspondent à ceux d'aucun composé d'aucune bibliothèque. Dans ce cas deux stratégies, uniquement envisageables pour l'analyse des constituants d'une huile essentielle, sont imaginables :

O Soit le composé est présent dans les bibliothèques RMN 13C (auquel cas il est identifié sans ambiguïté),

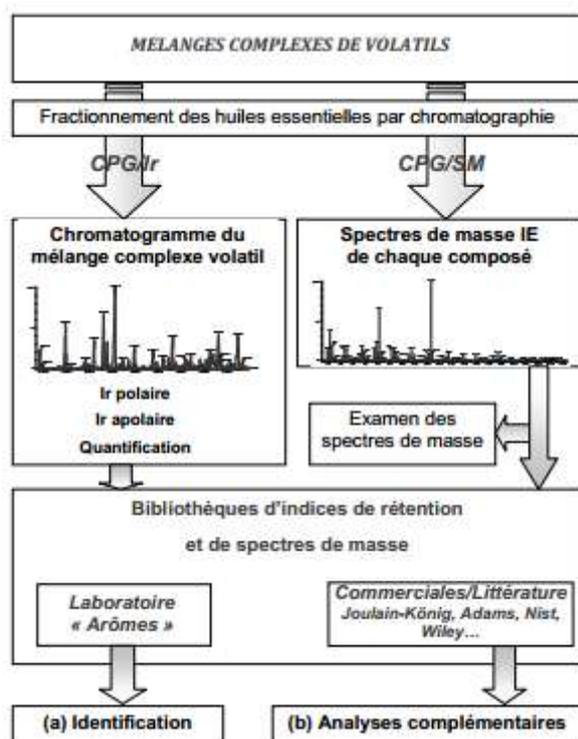
O Soit le composé est absent des bibliothèques RMN 13C, auquel cas nous n'avons d'autre ressource que le schéma classique de purification du constituant dans l'optique d'une étude structurale

Afin de pallier les limites analytiques du couplage CPG/SM-IE, l'ionisation chimique a été utilisée pour l'identification des constituants des huiles essentielles [111] [112]. Il s'agit d'un mode d'ionisation plus doux que l'impact électronique dans lequel il est recherché des réactions ions-molécules entre les molécules de l'échantillon en phase gazeuse et les ions d'un plasma obtenus à partir d'un gaz réactant. La réaction plasma/molécule produit des ions positifs ou négatifs qui sont repérés sur des spectres de masse plus simples et surtout plus informatifs que ceux obtenus en IE [113][114]. L'ionisation peut se faire par transfert de proton, réactions d'association ou formation d'adduits, perte ou abstraction d'un hydrure ou échange de charge[115] [112]. La contribution à chacune de ces réactions d'ionisation dépend de la nature de la substance à analyser et du gaz réactant.

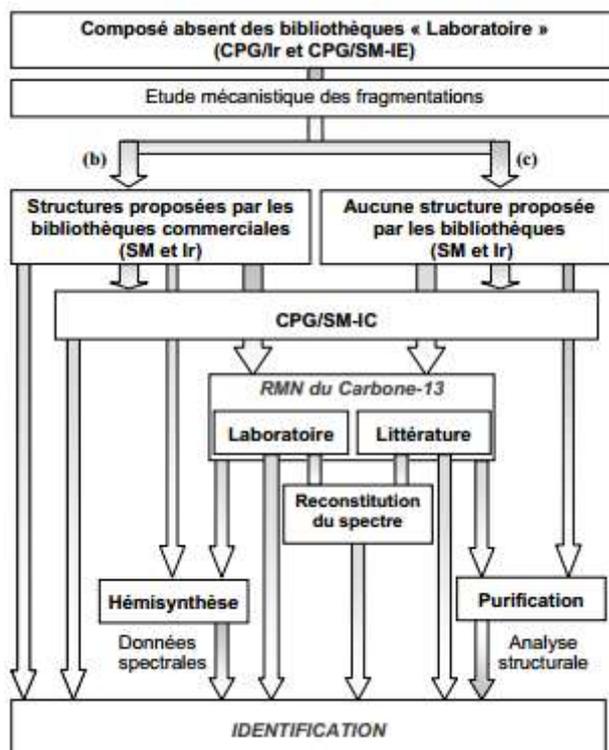
Le grand avantage de cette technique est sa flexibilité. En effet, en faisant varier les conditions expérimentales, à savoir la nature du gaz réactant, la pression et la température de la source, il est possible d'observer l'ion quasi-moléculaire des molécules[113]. La faible quantité d'énergie transférée

## ANALYSES DES MELANGES COMPLEXES DES VOLATILS

lors de l'ionisation limite les fragmentations et permet ainsi une meilleure différenciation des isomères [116][117]. De plus, la sensibilité de l'IC peut être particulièrement affectée par le choix du gaz réactant, phénomène qui peut permettre de résoudre des problèmes de co-élutions observés en CPG/SM-IE lors d'analyse de mélanges complexes [118].



**Figure 5 :** Identification des constituants de mélanges complexes de volatils par combinaison des techniques CPG et CPG/SM.



**Figure 6 :** Analyses complémentaires mises en œuvre pour l'identification des constituants d'une huile essentielle.

C'est cette méthodologie que nous avons utilisée pour l'analyse des huiles essentielles et hydrolats de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*. Du fait de la simplicité des mélanges volatiles issus des huiles essentielles et l'hydrolat de notre menthe, nous avons pratiquement eu recours uniquement à l'analyse « de routine » qui est généralement réalisée pour l'étude des mélanges de volatils dont l'identification des constituants ne présente pas de difficultés majeures. Elle est réalisée conjointement par CPG et CPG/SM sans fractionnement sur colonne pour les huiles essentielles. L'identification des constituants du mélange est réalisée, pour la plupart d'entre eux, à partir des données spectrales présentes dans la bibliothèque d'indices de rétention et de spectres de masses « Arômes » construite au laboratoire CPN de l'Université de Corse. Le plus souvent cette méthode est plus dédiée au suivi de la qualité des huiles essentielles commerciales.

L'analyse par combinaison des techniques associe le pouvoir de séparation des techniques chromatographiques (CLC, CPG) à la puissance d'identification des techniques spectroscopiques (SM et RMN) dans le but d'optimiser la performance de notre méthodologie d'analyse. Cette combinaison est généralement mise en œuvre pour l'analyse des huiles essentielles dont l'identification des constituants est difficile, notamment lorsque les limites d'identification de la bibliothèque du laboratoire sont atteintes.

## VI. RESULTATS ET DISCUSSION

### VI.1. Etude de la partie volatile de deux menthes :

#### VI.1.1. Détermination du pourcentage en eau :

Le taux d'humidité (pourcentage en eau) est la quantité d'eau contenu dans la matière végétale. Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le séchage à l'abri de la lumière.

Les plantes, fraîchement récoltées, sont séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant 14 jours.

La détermination de l'humidité des plantes sèches des deux espèces de menthe ont révélé un taux égal approximativement à la moitié du poids des plantes fraîches pour *Mentha pulegium* et plus des trois-quarts pour *Mentha rotundifolia*. Ce taux correspond à environ **53,66%** pour *Mentha pulegium* et **80,09%** pour *Mentha rotundifolia*.

#### VI.1.2. Préparation de l'échantillon :

Les parties aériennes des deux menthes étudiées ont été récoltées au niveau de l'ouest algérien. L'huile essentielle a été obtenue à partir du matériel végétal frais par hydrodistillation de type Clevenger pendant 3 heures.

Les deux tableaux regroupent les informations liées au site de récolte, à la date de récolte, aux coordonnées GPS, à l'altitude, ainsi qu'au rendement de l'hydrodistillation.

**Tableau 5:** Stations de récolte de *Menthe pulegium*.

N°MP	Zones (stations)	Coordonnées GPS	Altitudes (m)	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements%
1	Ain el kebira 1	35°01'37.99"N ; 1°41'15.18"O	580	13/11/2015	87	1,03
2	Ain el kebira 2	35°01'37.06"N ; 1°41'10.64"O	600	13/11/2015	79	1,69
3	Ain elkebira 2 F	35°01'37.06"N ; 1°41'10.64"O	600	02/04/2016	26,47	1,05
4	Ain elkebira 2 T	35°01'37.06"N ; 1°41'10.64"O	600	02/04/2016	40,83	0,26
5	Ain el kebira 3	35°01'34.62"N ; 1°41'19.60"O	570	04/12/2015	70,8	0,48
6	Ain el kebira 4	35°01'48.72"N ; 1°41'15.46"O	507	11/12/2015	68,84	0,40
7	Ain el kebira 5	35°01'55.02"N ; 1°41'21.75"O	435	12/02/2016	123,07	0,43
8	Ain el kebira 6	35°01'48.96"N ; 1°41'19.05"O	492	12/02/2016	85	0,50
9	Ain el kebira 7	35°01'45.89"N ; 1°41'25.51"O	485	12/02/2016	138,61	0,45
10	Ain el kebira 8	35°01'49.11"N ; 1°41'29.90"O	464	12/02/2016	33,97	0,29
11	Ain el kebira 9	35°01'51.25"N ; 1°41'30.38"O	451	26/02/2016	151,41	0,64
12	Ain el kebira 10	35°01'51.93"N ; 1°41'30.48"O	448	26/02/2016	79,16	0,64
13	Ain el kebira 11	35°02'00.72"N ; 1°39'23.66"O	510	23/04/2016	49,36	0,93
14	Djebala 1	34°58'16.07"N ; 1°45'10.14"O	949	17/12/2015	105	0,9
15	Djebala 2	34°57'55.87"N ; 1°47'41.51"O	679	24/03/2016	94,66	0,32
16	Sebdou	34°39'33.03"N ; 1°32'42.70"O	820	01/05/2016	29,00	1,58
17	Lakhmis	34°37'58.83"N ; 1°33'40.77"O	954	01/05/2016	29,53	2,26
18	Bab el assa 1	34°57'49.53"N ; 2°01'45.50"O	391	20/02/2016	56,47	2,09
19	Tounane	35°02'25.80"N ; 1°53'43.06"O	333	02/04/2016	115,82	2,91
20	Ghazaouet	35°05'59.29"N ; 1°51'05.04"O	83	26/02/2016	216,75	1,6
21	Ghazaouet 1	35°05'04.48"N ; 1°50'12.35"O	67	29/03/2016	102,52	1,88
22	Ghazaouet 2	35°05'08.75"N ; 1°50'22.43"O	45	29/03/2016	29,55	0,98
23	Ghazaouet 3	35°04'56.09"N ; 1°51'05.70"O	48	02/04/2016	161,68	1,94
24	El amria	35°31'33.58"N ; 1°01'05.31"O	108	14/03/2016	32,22	0,46
25	Maaziz	34°54'35.94"N ; 1°48'28.04"O	526	17/03/2016	128	0,6

## RESULTATS ET DISCUSSION

26	Bab el assa 2	34°57'49.49"N ; 2°01'45.23"O	415	02/04/2016	50,22	2,25
27	Zaouia mira	35°02'34.71"N ; 1°55'37.63"O	373	02/04/2016	139,92	1,84
28	Dar bentata	35°04'22.48"N ; 1°46'15.55"O	219	24/03/2016	159,28	0,24
29	Ouchba	34°52'23.11" N ; 1°10'12.52"O	807		28,23	1,13
30	Nedroma 1	35°00'12.00"N ; 1°46'06.11"O	411	04/04/2016	80,77	0,58
31	Nedroma 2	35°00'59.66"N ; 1°44'20.59"O	387	01/04/2016	43,69	0,59
32	Nedroma 3	35°00'12.59"N ; 1°44'23.86"O	532	14/04/2016	48,83	0,75
33	Nedroma 4	35°00'18.56"N ; 1°44'06.40"O	558	14/04/2016	99,45	0,93
34	Maghnia	34°51'13.95"N ; 1°44'07.41"O	409	03/04/2016	96,47	0,58
35	Boutrak 1	34°58'07.23"N ; 1°37'59.21"O	307	14/04/2016	27,00	1,03
36	Boutrak 2	34°58'07.90"N ; 1°38'04.57"O	312	14/04/2016	25,48	1,02
37	Oualhaca	35°11'27.10"N ; 1°30'06.69"O	220	17/04/2016	104,28	0,58
38	Oualhaca F	35°11'27.10"N ; 1°30'06.69"O	220	15/05/2016	42,36	0,84
39	Oualhaca T	35°11'27.10"N ; 1°30'06.69"O	220	15/05/2016	41,36	0,58
40	Fellaoucene 1	35°01'29.78"N ; 1°35'51.28"O	250	14/04/2016	21,49	1,39
41	Fellaoucene 2	35°01'29.20"N ; 1°35'55.63"O	257	14/04/2016	69,28	0,75
42	L Bordj-Bou-Arredj	36°04'35.49"N ; 4°47'12.64"E	1023	05/03/2016	39,47	1,31
43	Setif	36°11'52.69"N ; 5°25'00.44"E	1093	21/03/2016	131,56	0,71
44	Mostaganem	35°55'55.61"N ; 0°05'08.10"E	32	20/02/2016	44,59	1,14
45	Relizane	35°44'00.24"N ; 0°32'58.63"E	104	20/02/2016	44,42	0,83

**Tableau 6 :** Stations de récolte de *Menthe rotundifolia*.

N°MR	Zones (stations)	Coordonnées GPS	Altitudes (m)	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements %
1	Ain el kebira 1	35°01'46.47"N ; 1°40'27.41"O	659	07/12/2015	39,81	0,54
2	Ain el kebira 2	35°01'49.41"N ; 1°41'15.20"O	507	11/12/2015	40,56	0,66
3	Ain el kebira 2 F	35°01'49.41"N ; 1°41'15.20"O	507	26/02/2016	165,33	2,03
4	Ain el kebira 2 T	35°01'49.41"N ; 1°41'15.20"O	507	26/02/2016	261,66	0,4
5	Ain el kebira 3	35°01'51.56"N ; 1°41'57.82"O	476	22/04/2016	85,75	0,78
6	Ain el kebira 4	35°01'55.15"N ; 1°41'27.56"O	448	12/02/2016	180,19	0,4
7	Ain el kebira 5	35°01'50.65"N ; 1°41'24.74"O	455	12/02/2016	73,84	0,43
8	Ain el kebira 6	35°01'54.58"N ; 1°41'22.06"O	436	12/02/2016	56,82	0,54
9	Ain el kebira 7	35°01'53.86"N ; 1°41'25.37"O	444	12/02/2016	219,58	0,32
10	Ain el kebira 8	35°01'51.53"N ; 1°41'35.83"O	452	22/04/2016	532,11	0,5
11	Ain el kebira 9	35°02'08.82"N ; 1°39'20.80"O	512	21/04/2016	24,69	1,12
12	Nedroma 1	35°01'26.43"N ; 1°45'04.86"O	266	12/12/2015	54,91	0,43
13	Nedroma 2	35°01'28.84"N ; 1°45'17.38"O	255	02/01/2016	67,07	0,5
14	Nedroma 3	35°01'22.85"N ; 1°45'21.63"O	261	02/01/2016	45,52	0,39
15	Sebdou	43°38'06.40"N ; 1°19'53.92"O	930	11/12/2015	291	0,55
16	Ain elghraba	34°42'07.67"N ; 1°23'37.60"O	782	11/12/2015	23,7	0,84
17	Ourite	34°52'03.01" N ; 1°15'52.59"O	741	13/12/2015	36,66	0,41
18	Safsaf	34°53'54.88"N ; 1°16'31.93"O	635	13/12/2015	64,39	0,45
19	Djeballa	34°58'33.41"N ; 1°45'15.92"O	852	30/12/2015	66,29	0,45
20	El madigue	34°53'51.95"N ; 1°15'45.31"O	643	07/02/2016	218,41	0,41
21	Kodya	34°54'37.69"N ; 1°20'58.03"O	627	07/02/2016	73,75	0,27
22	Sidi kanone	34°56'02.55"N ; 1°21'18.06"O	497	16/02/2016	55,17	1,57
23	Ain feza	34°52'34.66"N ; 1°14'03.99"O	863	29/01/2016	65,33	1,51
24	Anabra	35°02'35.44"N ; 2°10'42.80"O	135	20/02/2016	283	0,78
25	Dar bentata	35°04'41.72"N ; 1°47'08.05"O	241	24/03/2016	105,9	1,13
26	Tlilat	35°33'00.44"N ; 0°27'00.69"O	136	14/03/2016	31,23	0,7
27	Oualhaca 1	35°11'27.05"N ; 1°30'06.14"O	220	17/04/2016	95,82	0,43

## RESULTATS ET DISCUSSION

28	Oualhaca 2	35°12'49.36"N ; 1°29'36.90"O	261	30/04/2016	255.00	0.46
29	Oualhaca 3	35°12'46.49"N ; 1°29'41.85"O	269	30/04/2016	216.32	0.61
30	Oualhaca 4	35°12'46.18"N ; 1°29'39.37"O	262	30/04/2016	204	0.57
31	Souk lakhmis	35°10'25.22"N ; 1°33'23.42"O	336	15/04/2016	31.69	0.78
32	Mansourah F	34°51'50.90"N ; 1°21'21.27"O	850	24/04/2016	40.00	1.92
33	Mansourah T	34°51'50.90"N ; 1°21'21.27"O	850	24/04/2016	39.00	0.38
34	Beni snousse	34°38'47.04"N ; 1°32'11.55"O	775	01/05/2016	109.00	2.95
35	Lakhmis1	34°38'03.31"N ; 1°33'56.71"O	878	01/05/2016	151.52	1.82
36	Lakhmis2	34°38'17.29"N ; 1°33'48.04"O	845	01/05/2016	217.15	1.96
37	Mascara	35°23'55.63"N ; 0°08'27.09"E	624	24/04/2016	95.33	0.82

A titre de faire une comparaison entre le rendement des feuilles et des tiges on a fait l'extraction des organes séparés, les résultats sont présentés dans le (tableau 7 et 8):

**Tableau 7 :** Les organes séparé de *Mentha pulegium*.

Stations	Organes	Coordonnées GPS	Altitudes	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements %
Ain el kebira 2	Feuilles	35°01'37.06"N ; 1°41'10.64"O	600	02/04/2016	26	1,05
	Tiges				41	0,26
Oualhaca2	Feuilles	35°11'27.10"N ; 1°30'06.69"O	220	15/05/2016	42.36	0.84
	Tiges				41.36	0.58

**Tableau 8 :** Les organes séparé de *Mentha rotundifolia*.

Stations	Organes	Coordonnées GPS	Altitudes	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements %
Ain el kebira 2	Feuilles	35°01'49.41"N ; 1°41'15.20"O	507	26/02/2016	165,33	2,03
	Tiges				261,66	0,4
Mansourah	Feuilles	34°51'50.90"N ; 1°21'21.27"O	850	24/04/2016	40.00	1.92
	Tiges				39.00	0.38

Nous avons obtenu une huile de couleur jaune pâle avec une odeur forte pour *Mentha pulegium* et une couleur jaune pour *Mentha rotundifolia*.

Les rendements sont compris entre 0.24 à 2.91 % pour *Mentha pulegium*, et entre 0.27 à 2.95% pour *Mentha rotundifolia*.

A noter que le rendement par type d'organe (Stations Ain el kebira F et T, Oualhaca F et T, Mansourah F et T) montrent que les feuilles sont plus riches en H.E que les tiges.

Nous pouvons déjà observer une différence significative entre les rendements d'extractions des plantes étudiée issus des différentes stations.

### VI.1.3. Suivi végétatif de deux menthes :

Afin de comprendre ces différences dans les rendements des HEs, l'étude de l'influence de la période de récolte sur le rendement en huiles essentielles a été réalisée.

Les travaux effectués sur les deux espèces végétales ont montré que l'influence du stade végétatif sur le rendement en huile essentielle est très importante. Les Tableau 9 et 10 regroupent les

## RESULTATS ET DISCUSSION

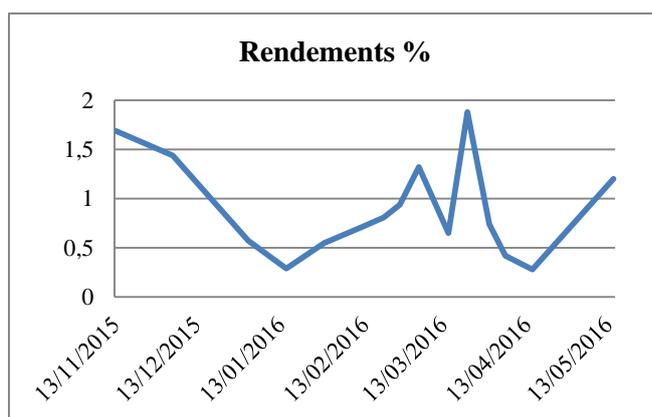
rendements en HE pour *M. pulegium* et *M. rotundifolia* de la station 2 (Ain el kebira) entre novembre 2015 et mai 2016.

**Tableau 9 :** Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha pulegium*.

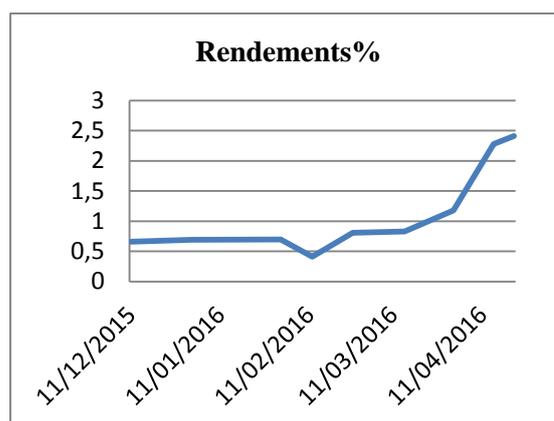
N°	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements%
P 2-1	13/11/2015	79	1,69
P2-2	04/12/2015	109	1,44
	problème de climat		
P2-3	01/01/2016	87,3	0,57
P2-4	15/01/2016	82	0,29
P2-5	29/01/2016	128,47	0,55
P2-6	12/02/2016	108,9	0,71
P2-7	20/02/2016	189,72	0,81
P2-8	26/02/2016	53	0,94
P2-9	04/03/2016	76,73	1,32
P2-10	15/03/2016	75,32	0,65
P2-11	22/03/2016	72,7	1,88
P2-12	30/03/2016	30,67	0,74
P2-13	05/04/2016	42,7	0,42
P2-14	15/04/2016	87,77	0,28
P2-15	30/04/2016	49.36	0.93
P2-16	15/05/2016	67.6	1.2

**Tableau 10 :** Influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*.

N	Dates des récoltes	Masse de la plantes (g)	Rendements%
R2-1	11/12/2015	40,56	0,66
R2-2	01/01/2016	43,36	0,69
	problème de climat		
R2-3	01/02/2016	86,7	0,7
R2-4	12/02/2016	180,19	0,41
R2-5	26/02/2016	115,35	0,81
R2-6	15/03/2016	269,25	0,83
R2-7	01/04/2016	237,74	1,18
R2-8	15/04/2016	62,89	2,28
R2-9	22/04/2016	426,34	2.41
R2-10	29/04/2016	414.38	2.59



**Figure 7 :** Courbe d'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha pulegium*.



**Figure 8 :** Courbe d'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

Les résultats des figures et tableaux représentent l'influence de la période de récolte sur le rendement en huile essentielle de deux espèces de menthes.

Les résultats obtenus entre novembre et mai montrent des changements significatifs liés probablement au climat, ainsi le rendement d'extraction de l'huile essentielle de *M. pulegium* change radicalement d'une période à une autre, contrairement à celui de *M. rotundifolia* qui est très constant et augmente régulièrement avec le stade végétatif de la plante pour donner son meilleur rendement à partir du mois de mai.

### VI.1.4. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* :

Les caractères organoleptiques des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* obtenues par hydrodistillation sont présentés dans le tableau 11.

**Tableau 11 :** Les propriétés organoleptiques des deux huiles essentielles.

	<i>Mentha pulegium</i>	<i>Mentha rotundifolia</i>
<b>Aspect</b>	Liquide.	Liquide limpide.
<b>Odeur</b>	Propre à la matière végétale.	Dégage une forte odeur de menthe caractéristique.
<b>Couleur</b>	Jaune foncée.	Jaune pâle.

D'après le tableau, on remarque que les huiles essentielles sont des liquides limpides d'une odeur forte caractéristique pour *Mentha pulegium* et liquide d'une odeur propre à la matière végétale pour *Mentha rotundifolia*, d'une couleur jaune pâle et jaune foncée pour les deux plantes respectivement.

### VI.2. L'hydrolat :

A l'issue de processus d'extraction de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* par hydrodistillation, 400ml d'hydrolat ont été récupérés pour chaque extraction.

Pour extraire les composés volatils, des extractions liquide-liquide successives avec du l'éther diéthylique ont été effectuées **0.47g** pour *Mentha pulegium* et **0.99g** pour *Mentha rotundifolia* d'extraits d'hydrolat concentrés ont été récupérés, ce qui correspond à une concentration de 0.47 g/l pour *Mentha pulegium* et 2.48 g/l pour *Mentha rotundifolia* par rapport au volume de départ. Les deux extraits possèdent des odeurs très fortes.

### VI.3. Analyse des matrices volatiles :

Les échantillons des huiles essentielles collectées ont été analysés, en premier temps, par CPG-Ir et CPG/SM-IE selon la méthodologie développée au Laboratoire de Produits Naturelles (CPN) de l'Université de Corse. Cette méthodologie est basée sur l'utilisation combinée de ces deux techniques complémentaires pour la quantification et l'identification des composés à l'aide de la bibliothèque AROME du laboratoire CPN, caractéristique des composés volatils. Cette même séquence analytique a été développée au laboratoire de Chimie Organique, Substances naturelles et Analyses (COSNA) de l'Université de Tlemcen, en second temps, ainsi les analyses obtenues par CPG et CPG/SM au laboratoire CONSA étaient systématiquement comparés à ceux obtenus au laboratoire CPN afin d'identifier les molécules des différentes huiles essentielles, vu l'absence, au laboratoire CONSA, d'une bibliothèque spécifique aux volatils des plantes.

L'identification des différents constituants a été faite :

(i) sur la comparaison de leurs indices de rétention en CPG (IR) sur les colonnes non polaires et polaires (Rtx1 et RtxWax), avec ceux de composés authentiques présents dans la bibliothèque du laboratoire CPN (la banque Arome).

(ii) sur la comparaison entre les différents spectres de masse des composés authentiques présents dans la bibliothèque du laboratoire CPN (la banque Arome).

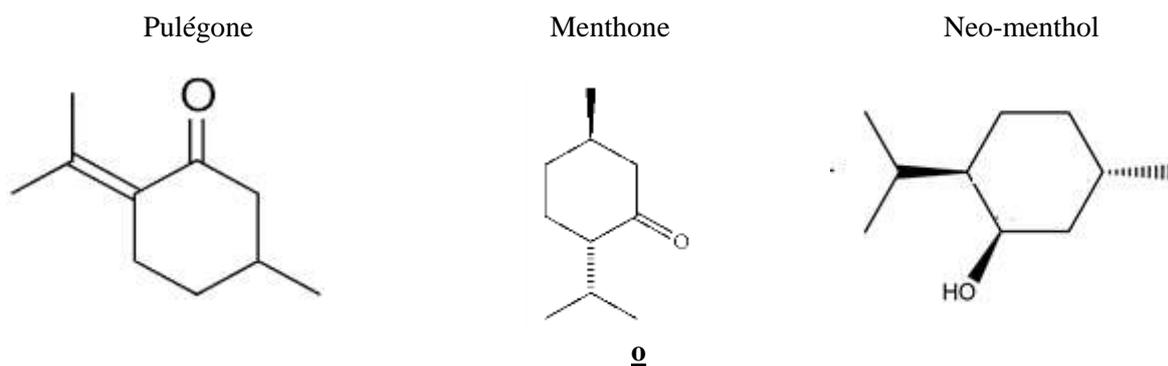
(iii) sur la comparaison des résultats des analyses obtenues au laboratoire CPN de Corse, avec ceux obtenues au laboratoire CONSA de Tlemcen.

#### VI.3.1. Analyses des huiles essentielles :

##### VI.3.1.1. Huiles essentielles de *M. pulegium* :

L'analyse préliminaire des 43 échantillons d'huile de *M. pulegium* de l'ouest algérien a montré des profils chromatographiques qualitativement similaires mais avec une différence quantitative dans l'abondance de leurs principaux composants.

Ces huiles essentielles étaient caractérisées par une forte abondance de pulégone (40,7 - 78,9%) comme composé majoritaire, suivi par le menthone (8,9 - 39,1%) et le neo-menthol (1,6 - 9,9%).



L'étude de la variabilité chimique de ces huiles essentielles à l'aide d'un logiciel de statistique a démontré la présence de deux groupes caractéristiques : un groupe majoritaire **G1** (30 stations) caractérisé par la forte abondance du pulégone (64,6 – 78,9%) et une faible abondance du menthone (8,1 – 10,8%), ainsi qu'un groupe minoritaire **G2** (13 stations) caractérisé par des abondances proche entre le pulégone (40,7 – 43,6%) et le menthone (31,6 – 40,2%). (Voir Tableau 12)

**Tableau 12** : Pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de *M. pulegium*.

Composés majoritaire	Group 1		Groupe 2	
	% min	% max	% min	% max
Pulégone	64,6	78,9	40,7	43,6
Menthone	8,1	10,8	31,6	40,2

En comparaison avec la littérature, l'huile essentielle de *Mentha pulegium* semble être similaire à ceux décrits dans la littérature, caractérisées par une forte abondance du pulégone, néanmoins les huiles du groupe 2 semblent présenter une certaine originalité, semblable à ceux du Portugal [42], de l'Iran [47], du Brésil [4], du Japon [57] et de la Yougoslavie [62], présentant une abondance moins importante du pulégone, et ainsi pouvant être mieux vendue dans l'industrie (le pulégone étant un composé allergène).

A la lecture de ces résultats il est bien évident que l'huile du groupe 2 a une plus forte valeur marchande que l'huile du groupe 1. Le menthone est utilisé comme cholagogue et cholérétique, et aussi entre dans la composition de certains parfums et arômes naturels [133].

### VI.3.1.2 Huiles essentielles de *M. rotundifolia* :

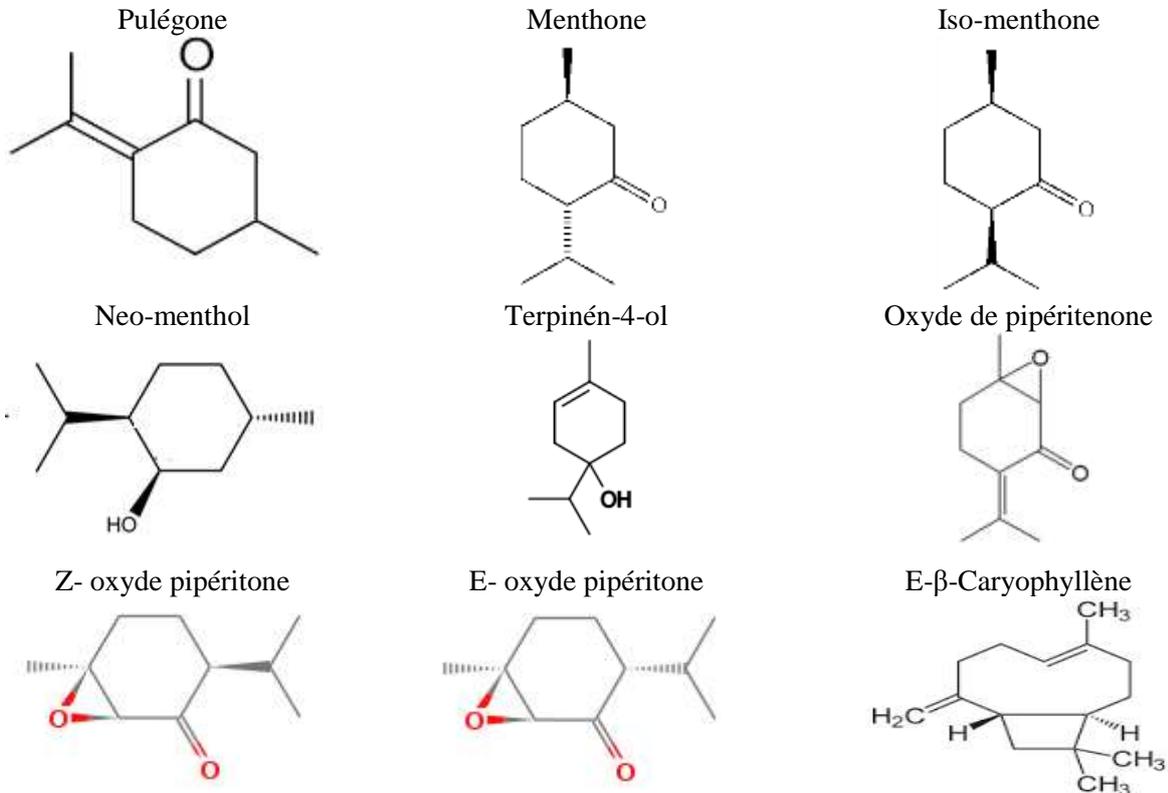
Contrairement aux huiles essentielles de *M. pulegium*, l'analyse préliminaire des 38 échantillons d'huile de *M. rotundifolia* de l'ouest algérien a montré des profils chromatographiques qualitativement différents.

L'étude de la variabilité chimique des différentes huiles a montré la présence de trois profils chimiques différents. Le Groupe **G1**, majoritaire (26 stations) était caractérisé par la présence des composés majoritaires : pulégone (1,2 – 39,8%), menthone (4,8 – 35,6%), iso-menthone (1,6 – 22,1%), neo-menthol (1,6 – 16,2%) et terpinén-4-ol (0,5 – 12,3%).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le 2<sup>ème</sup> groupe **G2** (9 stations) caractérisé par la présence des composés majoritaires : Oxyde de pipéritone (7,6 – 41,9%), Z- oxyde pipéritone (10,3 – 12,5%) et E- oxyde pipéritone (9,8 – 12,1%).

Le 3<sup>ème</sup> groupe **G3** (3 stations seulement) caractérisé par une forte abondance du pipéritone oxyde (32,7 – 48,3%) suivi du terpinén-4-ol (9,7 – 13,6%) et E-β-Caryophyllène (6,5 – 10,2%).



**Figure 10** : Composés majoritaires dans l'Huile essentielle de *M. rotundifolia*.

Le tableau 13 regroupe les pourcentages des composés majoritaires (minimum et maximum) pour chaque groupe.

**Tableau 13**: Pourcentages des composés majoritaires des huiles essentielles de *M. rotundifolia*.

	Groupe 1		Groupe 2		Groupe 3	
	% min	% max	% min	% max	% min	% max
Pulégone	1,2	39,8	0,1	0,9	0,1	1,1
Menthone	4,8	35,6	0	0	0	0
Iso-menthone	1,6	22,1	0	0	0	0
Neo-menthol	1,6	16,2	0	0	0	0
Terpinen-4-ol	0,5	12,5	0,1	3,2	9,7	13,6
Oxide de piperitene	0	0	7,6	41,9	32,7	48,3
Z- oxyde pipéritone	0	0	10,3	12,5	0	0
E- oxyde pipéritone	0	0	9,8	12,1	0	0
E-β-Caryophyllène	0,1	1,1	1,5	2,3	6,5	10,2

A la lecture de ces résultats et en comparaison avec la littérature, les différentes huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* semblent être similaires à ceux décrits dans la littérature, ou l'es huiles de l'ouest algérien représentent bien les différences de variabilité décrite dans la littérature, ainsi nous pouvons dire que les huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* de l'ouest algérien présentent à

leur tour une très forte variabilité chimique, néanmoins le chémotype (pulégone, menthone, neo-menthol) semble être le plus répondu. Au même titre, les chémotypes oxyde de pipéritenone et Z et E oxyde de pipéritone ont une plus forte valeur marchande car ces des molécules qui sont très recherché par les industriels. Pour l’oxyde de pipéritenone composé majoritaire de *Mentha rotundifolia* qui est utilisé comme relaxant, stimulant et dépressant, il présente des effets cardiovasculaires (activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), des propriétés antibactériennes et antifongiques. L’oxyde de pipéritenone est également intéressant pour la synthèse des hétérocycles, de pyrazoles, de pyrazolines et d’alcools allyliques [85].

### VI.3. 2. Analyse des extraits d’hydrolats:

#### VI.3.2.1. Hydrolat de *M. pulegium* :

Au même titre que l’huile essentielle de *M. pulegium*, l’analyse de la composition chimique de son hydrolat présente les mêmes composés majoritaires, ainsi on a comme composés majoritaires : le pulégone (31,4%), le menthone (22,1%), le neo-menthol (14,5%) et le verbenone (8,5%).

#### VI.3.2.2. Hydrolat de *M. rotundifolia* :

L’analyse de la composition chimique de l’hydrolat de *M. rotundifolia* du groupe 1 a présenté une composition un peu similaire à celle de l’huile essentielle à l’exception de l’abondance du pipéritenone dans cette matrice, contrairement à l’huile essentielle, et la présence de l’acétate de carvone jamais trouvé dans les huiles essentielles. Les composés majoritaires sont : pipéritenone (22,9 – 30,2%), menthone (6,2 – 29,7%), pulégone (10,9 – 25,1%), acétate de carvone (1,1 – 8,4%) et terpinén-4-ol (2,5 – 7,5%).

### VI.3.3. L’analyses des suivis végétatifs

Au cours de cette étude, nous avons analysé l’huile essentielle extraite des échantillons récoltés dans la région d’Ain el kebira à différentes périodes.

Les teneurs relatives des constituants majoritaires de l’huile essentielle de *Mentha pulegium* sont regroupées dans le tableau 14.

Pour *Mentha rotundifolia* les analyses sont en cours.

**Tableau 14** : Les teneurs relatives de quelques constituants de l’huile essentielle de *M. pulegium*.

	13/11/2015	04/12/2015	01/01/2016	29/01/2015	20/02/2016	15/03/2016	15/04/2016	15/05/2016
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Eucalyptol</b>	30,5	25,9	18,7	16,9	12,1	6,7	3,5	2,1
<b>Menthone</b>	27,2	29,8	30,5	32,5	34,2	36,6	40,5	39,8
<b>Neo-menthol</b>	22,9	32,5	35,8	25,5	23,7	20,9	14,8	10,3
<b>Pulégone</b>	6,5	9,1	12,9	15,8	15,9	17,9	21,2	28,6

Les résultats de ce tableau, nous ont permis de constater tout d’abord que la teneur du composé majoritaire est très importante au cours du temps. On remarque que le pulégone est très importante en mois de mai (28.6%) par rapport au mois de novembre (6.5%), contrairement au menthone qui varie entre 27.2% et 39.8%. concernant les autres composés l’eucalyptol et le neo-menthol, nous avons remarqué une diminution au cours du temps.

Une remarque très importante s'impose en examinant le tableau, les constituant majoritaire de l'huile essentielle ne sont pas toujours les mêmes pendant la période de végétation de la plante.

### VI.4. Activités biologiques :

Les menthes sont utilisées depuis des siècles dans les préparations alimentaires non seulement pour la saveur qu'elles apportent mais également pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques.

La plupart des plantes médicinales doivent leurs actions thérapeutiques à un ou plusieurs principes actifs que l'on peut isoler et analyser chimiquement, (analyse chromatographique couplée à la spectrométrie de masse de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* et *Mentha pulegium*).

Par ailleurs, et afin de poser plus la lumière sur l'intérêt économique des deux menthes de notre région, nous avons opté pour l'étude des activités antioxydante, antibactérienne, et aussi antifongique de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*.

#### VI.4.1. Activité anti-radicalaire et antioxydante :

Les propriétés antioxydantes des huiles essentielles sont depuis peu massivement étudiées, le stress oxydatif, qui survient lors de déséquilibres entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes [119].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour mesurer les activités antioxydantes des extraits volatils de deux menthes : méthode de FRAP, blanchissement de la  $\beta$ -carotène et la méthode de détermination de l'oxydation du radical 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl dite DPPH. La sensibilité, la rapidité, l'applicabilité ainsi que la mise en relation des résultats sont discutés.

##### VI.4.1.1. Evaluation de l'activité anti-radicalaire :

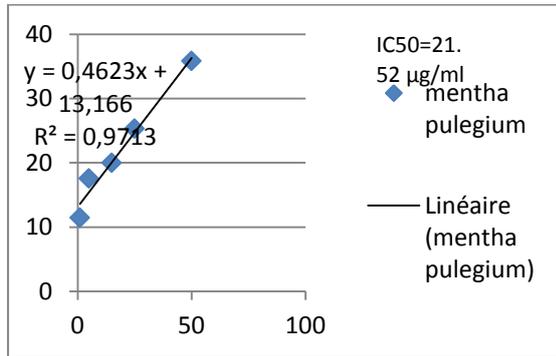
L'activité anti radicalaire de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* a été évaluée par la capacité de balayage du radical libre DPPH. Egalement, le même test a été réalisé mais cette fois-ci avec un antioxydant de référence BHT.

Les résultats obtenus lors du test de mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont enregistrés dans les tableaux 15 et 16. Il semble que le pourcentage d'inhibition du radical libre augmente avec l'augmentation de la concentration pour BHT, l'extrait d'hydrolat, ou pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*.

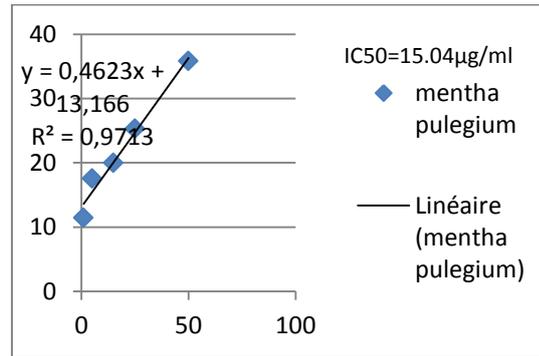
##### 1. Pour *Mentha pulegium*

**Tableau 15 :** Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Mentha pulegium*.

Cc	50µg/ml	25µg/ml	15µg/ml	5µg/ml	1µg/ml	IC <sub>50</sub> µg/ml
<b>HE</b>	73.8	55.07	44.42	30.14	26.15	<b>IC<sub>50</sub>= 21.52</b>
<b>Ex HY</b>	85.44	61.88	54.2	45.57	26.32	<b>IC<sub>50</sub>=15.04</b>
<b>BHT</b>	64.69	55.85	35.95	30,40	18,55	<b>IC<sub>50</sub>= 7,36</b>



**Figure 11** : Pourcentage d'inhibition H.E. de *M. pulegium*

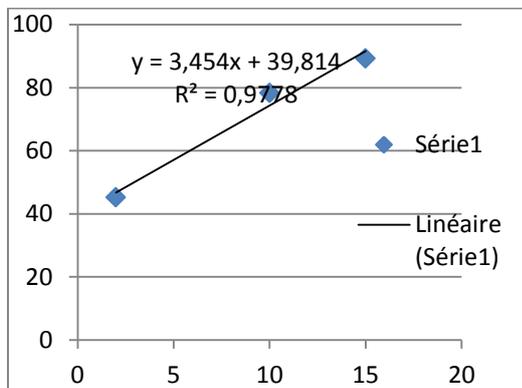


**Figure 12** : Pourcentage d'inhibition Ex HY de *M. pulegium*.

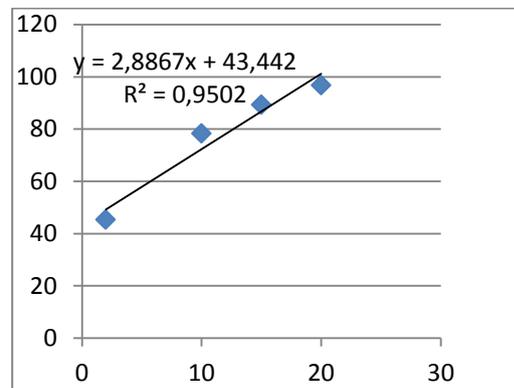
**2. Pour *Mentha rotundifolia* :**

**Tableau 16** : Pourcentage d'inhibition de l'huile essentielle et l'extrait d'hydrolat de *Mentha rotundifolia*.

Cc	50µg/ml	25µg/ml	15µg/ml	5µg/ml	1µg/ml	IC <sub>50</sub> µg/ml
HE	79.35	54.26	45.44	36.17	29.29	IC <sub>50</sub> = 40.90
Ex HY	96,85	91,85	89,22	78,26	45,22	IC <sub>50</sub> =2,27
BHT	64.69	55.85	35.95	30,40	18,55	IC <sub>50</sub> = 7,36



**Figure 13** : Pourcentage d'inhibition H.E. de *Mentha rotundifolia*.



**Figure 14**: Pourcentage d'inhibition Ex HY de *Mentha rotundifolia*

Parmi les deux extraits de menthes, l'extrait de *Mentha rotundifolia* représente l'extrait le plus actif avec une IC<sub>50</sub> de l'ordre de 2.27 µl/ml, suivi par l'extrait de *Mentha pulegium* avec une IC<sub>50</sub> de 15.04 µl/ml qui est moins faible que l'IC<sub>50</sub> de BHT (7.36 µl/ml).

Par contre, concernant l'activité anti radicalaire de l'huile essentielle, l'activité de *Mentha pulegium* a été meilleure par rapport a l'HE de *Mentha rotundifolia* avec des ( $IC_{50}=21.52 \mu\text{l/ml}$ ,  $IC_{50}=40.90 \mu\text{l/ml}$  respectivement).

### VI. 4.1.2. Méthode de réduction des ions ferreux FRAP :

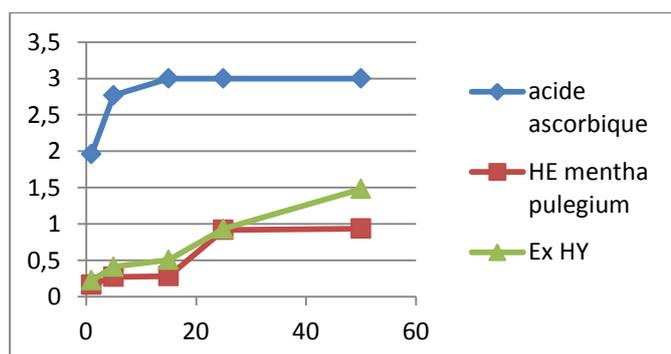
La capacité chélatrice des extraits est mesurée en suivant l'inhibition de la formation du complexe Fe(II)-Ferrozine après incubation des échantillons avec le fer divalent selon la méthode de Le et al (2007) [120].

Les témoins utilisés concernant cette méthode sont l'Acide ascorbique ou les résultats sont regroupés dans les tableaux suivant :

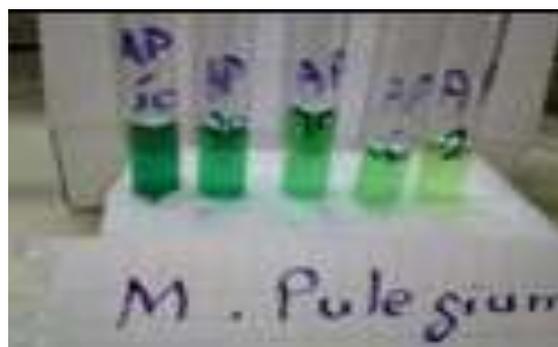
#### 1. Pour *Mentha pulegium*

**Tableau 17** : Résultats du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP pour *M. pulegium*.

Concentrations	50	20	10	5	1
Abs HE Mp	0,937	0,92	0,275	0,284	0,166
acide ascorbique	3	3	3	2,769	1,962
Abs Ex HY	1,481	0,934	0,508	0,413	0,226



**Figure 15** : Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. pulegium*.

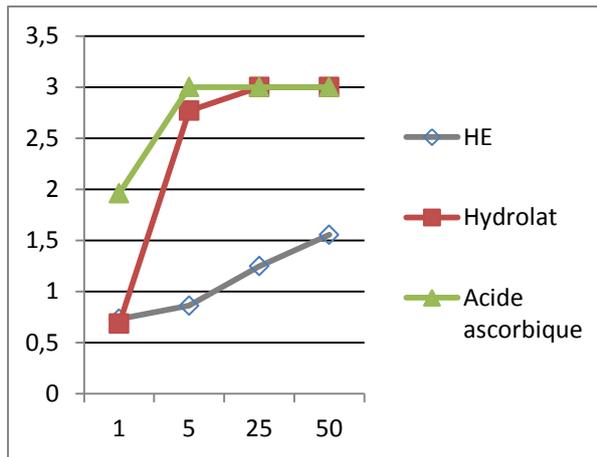


**Figure 16** : Résultats du test de la méthode de FRAP de *Mentha pulegium*.

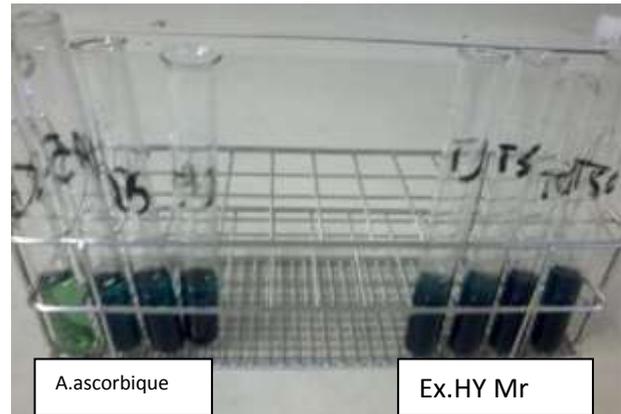
#### 2. Pour *Mentha rotundifolia*

**Tableau18** : Résultats du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP pour *M. rotundifolia*.

Concentrations	50µg/ml	25µg/ml	15 µg/ml	5µg/ml	1µg/ml
Ethanol	0,000	0,000	0,0000	0,0000	0,0000
Blanc	0,532	0,532	0,456	0,034	0,033
Absorbance vitamine « C »H.E	3,000	3,000	2,999	2,850	1,962
Absorbance H.E	1,556	1,247	0,952	0,862	0,733
Absorbance hydrolat	3,000	3,000	3,000	2,471	2,521



**Figure 17** : Courbe d'évaluation du pouvoir antioxydant par la méthode de FRAP de *M. rotundifolia*.



**Figure 18** : Résultats du test de la méthode de FRAP de *Mentha rotundifolia*.

Concernant le résultat captivant qu'a présenté l'extrait d'hydrolat de *Mentha rotundifolia* en le comparant avec l'acide ascorbique ça nous a servi comme un appui fort pour la méthode de DPPH en donnant des valeurs similaires à celle de l'acide ascorbique et même meilleurs dans le cas des concentrations plus faibles (5 $\mu$ l/ml et 1 $\mu$ l/ml). Ces résultats montrent que l'extrait d'hydrolat de *M. rotundifolia* a un effet de conservation plus important que l'acide ascorbique à faible concentration ce qui peut lui valoir d'être un bon agent de conservation des produits alimentaires.

En outre, le pouvoir antioxydant HEMp, HEMr, Ex HY sont faibles par rapport à la valeur d'absorbance de l'acide ascorbique (0.166, 0.733, 0.226 respectivement).

### VI. 4.1.3. Test de blanchissement de $\beta$ -carotène :

Dans ce test la capacité antioxydante des extraits est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique selon la méthode décrite par Kartal et al (2007) [121].

Afin d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles et des extraits d'hydrolats des deux menthes, nous avons utilisé la méthode de blanchissement du  $\beta$ -carotène, un suivi de la réaction de l'oxydation du  $\beta$ -carotène en présence des extraits et ou des témoins (négatif et positif), a été effectué en mesurant l'intensité de la couleur de  $\beta$ -carotène à une longueur d'onde de 470 nm, permet de tracer une courbe.

#### 1. Pour *Mentha pulegium*

## RESULTATS ET DISCUSSION

**Tableau 19** : Résultats du test de blanchissement du  $\beta$ -carotène de *M. pulegium*.

Echantillons	Activité antioxydante						
<b>HE</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/mL}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	26.32	34.20	54.57	61.83	75.44	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>18.93</b>
<b>HY</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	36,2	54,79	66,44	71,62	97,6	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>5.37</b>
<b>BHT</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	49.55	55.59	75.36	85.46	98.23	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>0.62</b>

### 2. Pour *Mentha rotundifolia*

**Tableau 20** : Résultats du test de blanchissement du  $\beta$ -carotène de *M. rotundifolia*.

Echantillons	Activité antioxydante						
<b>HE</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/mL}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	9.65	11.53	15.23	19.43	66.43	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>40.87</b>
<b>HY</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	49.25	57.33	67.53	77.01	91.54	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>0.51</b>
<b>BHT</b>	Concentration de l'extrait ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>15</b>	<b>25</b>	<b>50</b>	
	Inhibition du blanchiment du $\beta$ -carotène (%)	49.55	55.59	75.36	85.46	98.23	
	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )						<b>0.62</b>

D'après les résultats obtenus, on constate que le BHT et tous les extraits testés inhibent d'une manière significative (0.62  $\mu\text{g/ml}$ ) l'oxydation couplée de l'acide linoléique et du  $\beta$ -carotène par rapport au contrôle négatif qui représente 100% de la peroxydation. L'HE de *Mentha pulegium* et l'HE de *Mentha rotundifolia* montre une activité inhibitrice appréciable avec une IC<sub>50</sub> estimé à 18.93% et 40.87% respectivement, mais cette valeur d'activité reste significativement inférieure à celle du contrôle positif (BHT) qui représente 100% d'activité inhibitrice. D'autre part ce test confirme une autre fois le pouvoir antioxydant très important que représente l'extrait d'hydrolat de *Mentha rotundifolia* avec une valeur de 0,51% et qui est une valeur très significative surtout par rapport au témoin de référence qui est le BHT suivi par l'extrait de *Mentha pulegium* avec une IC<sub>50</sub> de 5.37  $\mu\text{g/ml}$  qui est moins faible que l'IC<sub>50</sub> de BHT.

## VI.4.2. Activité antimicrobienne :

L'étude de l'inhibition des germes par les huiles essentielles in vitro est connue depuis longtemps.

En collaboration avec l'équipe de Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement, LAMAABE, sous la direction du Pr. Mourad BENDAHOU, les tests de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle ont été réalisés sur 8 souches de références.

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle est évaluée en fonction du diamètre d'inhibition. Ce dernier indique le pouvoir d'inhibition. Les tableaux suivant présentent les résultats obtenus pour l'activité antibactérienne des huiles essentielles de deux menthes.

**Tableau 21** : Résultats des activités antimicrobiennes sur Les huiles essentielles de *M. pulegium* et *M. rotundifolia* par la méthode des disques.

### Méthode par les disques : (zones d'inhibitions en mm)

**Gent** : gentamicine (15µg)

Souches bactériennes	M. p		M. r			Gentamicine
	G1	G2	G1	G2	G3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	6	6	6	8	6	10
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	6	8	8	8	8	20
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	11	6	6	8	8	19
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	9	11	28	8	28	21
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	12	26	14	13	12	20
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	20	8	11	20	10	20
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	18	30	30	24	30	21
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	11	9	9	10	18	18

M. p: *Mentha pulegium* M. r: *Mentha rotundifolia*

**Tableau 22** : Résultats des activités antimicrobiennes sur Les huiles essentielles de *M. pulegium* et *M. rotundifolia* par la méthode des CMI.

### Méthode par les CMI : (Concentrations Minimales Inhibitrices des HE et Gentamicine en mg/ml)

Souches bactériennes	M. p		M. r			Gentamicine
	G1	G2	G1	G2	G3	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	-	-	0.004
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 70603	-	-	-	-	-	0.004
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	1	-	-	2	2	0.004
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	2	2	0.0625	2	0.0625	0.004
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19115	0.5	0.0625	0.25	0.5	0.5	0.002
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	0.125	-	2	0.125	2	0.004
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.125	0.0625	30	0.125	0.0625	0.002

<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	2	-	-	2	0.125	0.004
-----------------------------------	---	---	---	---	-------	-------

M. p: *Mentha pulegium*    M. r: *Mentha rotundifolia*

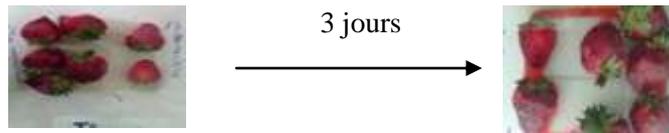
Ces résultats démontrent que suivant la nature des composés majoritaires, les résultats des activités changent, mais de façon générale, les huiles des deux plantes sont actives sur les souches *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis*. Au même titre les huiles de *M. rotundifolia* donnent une très bonne activité sur *Escherichia coli*.

### VI.4.3. Tests *in-vivo* (Activité antifongique):

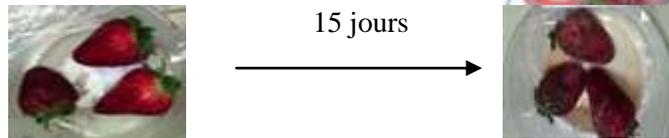
Un grand nombre de plantes aromatiques contiennent des composés chimiques ayant des propriétés biologiques différentes. Plusieurs travaux de recherche ont été focalisés sur les huiles essentielles extraites de ces plantes aromatiques, très peu d'études ont porté sur l'hydrolat. Cependant, les travaux de recherche sur les propriétés antifongique de certaines plantes sont rares. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer *in vivo* l'activité antifongique des deux hydrolats de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*. Une contamination par le champignon *Botrytis cinerea* qui infecte les fraises a été réalisée.

**Le témoin :**

**T= 28 C°**



**T= 4 C°**

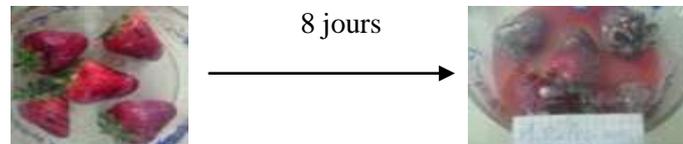


**Figure 19 :** Fraises non traitées par l'hydrolat (témoin).

**Pour *M. pulegium* :**

**T= 28C°**

Hydrolat+contamination

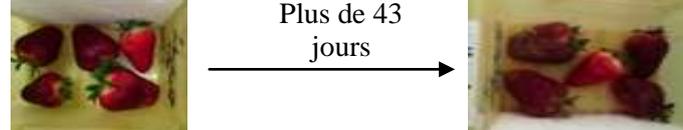


**T= 4 C°**

Hydrolat+contamination



Hy sans contamination



**Figure 20 :** Fraises traitées par l'hydrolat de *M. pulegium*.

Pour *M. rotundifolia* :

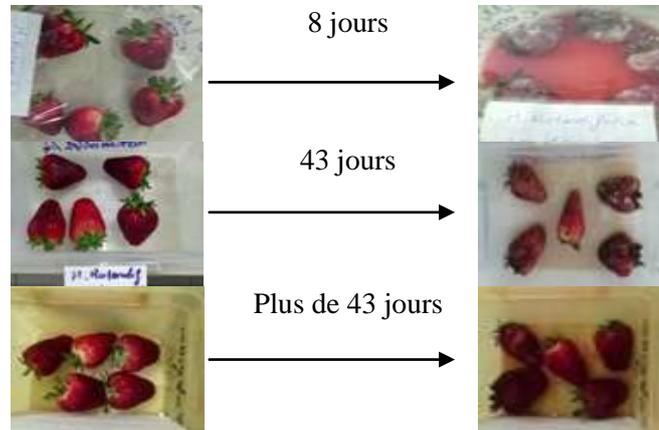
T= 28 C°

Hydrolat+contamination

T= 4 C°

Hydrolat+contamination

Hy sans contamination



**Figure 21** : Fraises traitées par l'hydrolat de *M. rotundifolia*.

Le suivi des résultats du test *in vivo* du lavage des fraises par l'hydrolat des deux menthes, *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* sur un champignon qui est *Botrytis cinerea* montre qu'après 30 jours, aucune incidence de la maladie n'est remarquée pour l'ensemble des fraises qui reste à la température de 4C°, mais pour les fraises qui reste à la température ambiante, la contamination est beaucoup plus prononcée (au bout de 08 jours).

Ces résultats suggèrent que les hydrolats des deux menthes peuvent jouer un rôle de conservateur pour les fraises à basse température.

## VII. CONCLUSIONS

L'objectif principal de ce travail se pose sur l'étude de l'intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes poussant à l'état spontané dans différentes régions de l'Ouest Algérien, et cela en impliquant la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle obtenue par hydrodistillation des parties aériennes des deux menthes, ce qui rentre dans le but de valoriser les plantes aromatique de notre région, pouvant constituer une source substantielle d'huiles essentielles à forte valeur ajoutée. Dans un premier temps, l'intérêt économique des huiles essentielles des menthes a été discuté. Dans un deuxième temps, l'extraction et l'identification des volatils de nos plantes a été réalisés. Enfin des valorisations par des activités biologiques, et les potentialités que peuvent avoir ces extraits *in vitro* et *in vivo* à savoir les capacités antioxydante, antifongique et antimicrobienne ont été discutés.

L'extraction de la partie aérienne de deux plantes *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* a permis d'obtenir des rendements qui diffèrent a cause des problèmes climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels).

L'ensemble des résultats obtenus au cours des analyses de plusieurs stations nous ont permis l'identification de 2 chémotypes pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, et 3 chémotypes pour l'huile de *Mentha rotundifolia*. Ces résultats peuvent aider les industriels à mieux choisir les lieux et période de récolte de ces deux plantes aromatiques à des fins de production de leurs huiles essentielles à l'échelle industrielle.

L'activité antioxydante des deux huiles essentielles et deux extraits d'hydrolat de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* a été évaluée par trois méthodes : la méthode de réduction de radical libre DPPH, méthode de réduction des ions ferreux FRAP, et le test de blanchissement de  $\beta$ -carotène. Pour la première méthode, Un fort pouvoir de piégeage du DPPH similaire au BHT exercé par l'extrait d'hydrolat a été observé. Au même titre, le pouvoir réducteur qu'ont présenté nos extraits en utilisant la méthode de FRAP a été remarquable pour les extraits d'hydrolats avec une décoloration similaire à l'acide ascorbique. L'aptitude de nos extraits à estimer l'activité antioxydante des substances dans les émulsions a été révélée par le test de blanchissement de la  $\beta$ -carotène, Les résultats montrent que l'oxydation de l'acide linoléique est efficacement inhibée par nos extraits d'hydrolats contrairement aux H.E qui ont montrées une activité modeste.

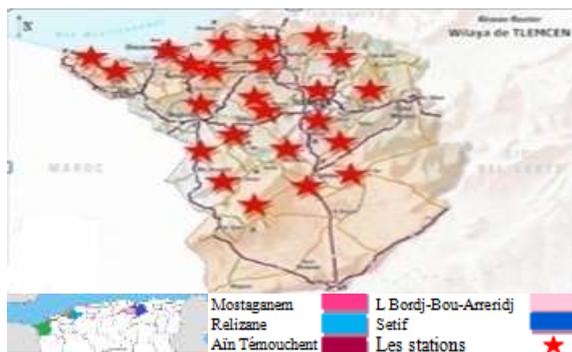
L'activités antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, évaluée par la méthode des CMI, a permis de révéler une activité moyenne sur la croissance de *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, et une fort activité sur les deux souches *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *M. pulegium* pourrait être attribuée à la présence du pulégone. Au même titre, l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* qui est caractérisé par une forte abondance d l'oxyde de pipéridone (32,7 – 48,3%) suivi du terpinén-4-ol (9,7 – 13,6%) et E- $\beta$ -Caryophyllène (6,5 – 10,2%) possède une très bonne activité par rapport au d'autres chémotypes. Les tests *in vivo* d'activité antifongique, réalisé sur les fraises montrent tout l'étendu de l'application de nos extrait et particulièrement celui de l'hydrolat comme conservateur naturel.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* avec une forte abondance du menthone constitue une bonne alternative commerciale à celle riche en pulégone. Au même titre l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* riche en oxyde de pipéridone constitue un fort potentiel économique à cause de l'intérêt porté à cette molécule par l'industrie pharmaceutique.

## VIII. Matériels et méthodes

### VIII.1. Préparation de l'échantillon :

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de deux plantes *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*, récoltée à Tlemcen (l'ouest d'Algérie) à partir de décembre 2015 jusqu'au mois de mai, 45 stations pour *Mentha pulegium* et 37 stations pour *Mentha rotundifolia*. Les échantillons sont séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité à température ambiante.



**Figure 22** : Stations de récolte de *M.pulegium*.



**Figure 23** : Stations de récolte de *M. rotundifolia*.

L'identification des espèces végétales a été faite par l'équipe de Botanique de l'Université de Tlemcen sous la direction de M. Fayçal HASSANI.

Après séchage de la plante, le taux d'humidité est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$H(\%) = ((M1 - M2) / M1) * 100$$

Considérons :

H% : taux d'humidité exprime en pourcentage.

M1 : poids de plante fraîche en gramme.

M2 : poids de plante sèche en gramme.

### VIII.2. Procédé d'extraction des huiles essentielles :

#### VIII. 2.1. Hydrodistillation (figure 4) :

Une hydrodistillation est assurée grâce à un appareil de type Clevenger, pour chacun des espèces étudiées nous avons introduit 500g de la plante séchée dans un ballons de 6L contenant 3L d'eau de robinet. Ce ballon est relié à un réfrigérant qui sert à condenser la vapeur d'eau contenant l'huile essentielle extraite. L'extraction débute lorsque les premières gouttes tombent dans le collecteur et se poursuit pendant 3h. Après condensation, l'huile essentielle se sépare de l'hydrolat. Les échantillons d'huile essentielle ont été stockés à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre.



**Figure 4** : Montage d'un hydrodistillateur type Clevenger.

## VIII. 2.2. Calcul de rendement :

Le rendement en huile essentielle a été déterminé par rapport à la matière végétale sèche.

Le rendement en huile essentielle a été calculé en utilisant la relation suivante :

$$R_{HE} = \frac{M_{HE}}{M_S} * 100$$

$R_{HE}$  : Le rendement en huile essentielle (%).

$M_{HE}$  : La masse de l'huile essentielle.

$M_S$  : La masse de la plante sèche.

## VIII. 2.3. Caractérisation des huiles essentielles :

### VIII. 2.3.1. Chromatographie en phase gazeuse :

Les analyses chromatographiques ont été effectuées en utilisant un appareil CPG Perkin Elmer Clarus 600 (Walton, MA, USA) équipé d'un injecteur unique et deux détecteurs à ionisation de flamme (FID). L'appareil a été utilisé pour l'échantillonnage simultané de deux colonnes capillaires en silice fondue (60 m x 0,22 mm, épaisseur film de 0,25 µm) avec différentes phases stationnaires: Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et RTX cire (polyéthylène glycol). Le programme de température est: de 60 à 230 ° C par pas de 2 ° C/min, puis la température est maintenue stable à 230 ° C pendant 30 min. Le gaz vecteur est l'hydrogène (0,7 mL/min). Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues à 280 ° C. Le mode d'injection a été mené avec un rapport de 1:80. Volume injecté: 0,1 µL.

### VIII. 2.3.2. Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse :

L'huile essentielle a été analysée en utilisant un analyseur quadripôle Perkin Elmer TurboMass, directement couplé à un Perkin Elmer Autosystem XL équipé de deux colonnes capillaires en silice fondue (60 mm x 0,22 mm, épaisseur 0,25 µm), Rtx-1 (polydiméthylsiloxane) et Rtx-Wax (polyéthylène glycol). Pour la CPG les mêmes conditions décrites ci-dessus ont été conservées. Pour la SM, la température de la source d'ions: 150 ° C; l'énergie d'ionisation: 70 eV;

Les spectres de masse à ionisation électronique ont été acquises avec un intervalle de masse de 35 à 350 Da; balayage de masse: 1s. Volume d'huile injectée: 0,1 µl.

### VIII.3. L'hydrolat :

Pour chaque extraction 400ml d'hydrolat ont été récupérés dans des bouteilles en verre et conservé à l'abri de la chaleur. Le volume total a été soumis à une extraction séquentielle liquide-liquide par un solvant apolaire en utilisant une ampoule à décanter. Chaque 300ml de l'hydrolat a été traité par 2 fois 50ml d'éther diéthylique. La phase organique a été ensuite évaporée au Rotavapor. Le résidu ainsi récupérer a été mis dans des flacons opaques préalablement pesés.

La phase organique a été ensuite évaporée au rota vapeur, l'extrait ainsi récupérer a été mis dans des flacons.

Le calcul de rendement est défini comme suit :  $R_{HY} = (V/V_0) * 100$

### VIII.4. Activités biologiques :

#### VIII.4.1. Evaluation de l'activité antioxydants

Il existe de nos jours un intérêt croissant vis-à-vis de la biologie des radicaux libres. Ce n'est pas seulement dû à leur rôle dans des phénomènes aigus tels que le traumatisme ou l'ischémie, mais aussi à leur implication dans de nombreuses pathologies chroniques associées au vieillissement tels que le cancer, les maladies cardiovasculaires et inflammatoires et la dégénérescence du système immunitaire [123].

##### VIII.4.1.1. Méthode de réduction du radical libre DPPH:

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphenyl picryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons [124].

Différentes concentrations comprises entre 0-50 mg/ml des échantillons étudiés (les différents extraits) et des témoins (acide ascorbique et BHT « des antioxydants de référence ». Une solution de DPPH a été préparée par solubilisation de 2.6 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol. Des solutions à différentes concentrations de l'extrait d'hydrolat ou standard (BHT) sont ajoutés à un volume complémentaire de DPPH 1ml, après incubation de 30 min en obscurité à la température ambiante, les absorbances sont mesurées à 517 nm contre le blanc correspondant (contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol) [125].

Les résultats ont été exprimés par la moyenne de deux mesures séparés  $\pm$  écart type. Le paramètre IC50 (concentration équivalente à 50% de DPPH perdu) est défini comme étant la concentration du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité de DPPH (couleur).

$$AAR\% = [Abs_{48h}(\text{échantillon})/Abs_{48h}(\text{BHT})] \times 100.$$

**Calcul des IC50:** IC50 (concentration inhibitrice de 50 %), aussi appelée EC50 (*Efficient concentration*50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des extraits testés.

### VIII. 4.1.2. Méthode de la réduction du fer FRAP :

L'activité réductrice du fer de nos extraits est déterminée avec la méthode [126] qui basée sur la réduction du  $Fe^{3+}$  présent dans le complexe  $K_3Fe(CN)_6$  en  $Fe^{2+}$ .

- Un millilitre de l'extrait à différentes concentrations est mélangé avec 2.5ml d'une solution tampon phosphate 0.2M (pH6.6) et 2.5ml d'une solution de ferricyanure de potassium  $K_3Fe(CN)_6$  0.1%.
- L'ensemble est incubé au bain marie à 50°C pendant 20mn.
- 2.5 d'acide trichloracétique à 10% sont ajoutés pour stopper la réaction.
- Les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 10 minutes.
- 2.5ml du surnageant sont mélangés à 2.5ml d'eau distillée et 0.5ml d'une solution de chlorure ferrique fraîchement préparé à 0.1%.

### VIII.4.1.3. Méthode de blanchissement de la $\beta$ -carotène :

Ce test mesure l'activité antioxydante envers l'acide linoléique relativement à la  $\beta$ -carotène. Cette dernière n'est pas due être affectée à la présence d'un antioxydant fort. Dans ce cas la solution restera avec la même couleur initial se qui signifie que la  $\beta$ -carotène n'était pas nécessaire pour empêcher l'oxydation de l'acide linoléique car la présence d'un antioxydant dans l'extrait pouvait faire ainsi [127].

La méthode décrite par Tepe et ses collaborateurs (2005) a été employée avec une légère modification. Une émulsion  $\beta$ -carotène/acide linoléique a été préparée par solubilisation de 2 mg de  $\beta$ -carotène dans 1 ml de chloroforme, ensuite 25  $\mu$ l de l'acide linoléique et 200 mg de tween 20 sont additionnés. Le chloroforme est complètement évaporé au rota vapeur et 100 ml d'eau oxygénée sont ajoutés, l'émulsion résultante est vigoureusement agitée [127].

À 2,5 ml du mélange précédent, 350  $\mu$ l de chaque extrait ont été ajoutés (à une concentration de 2 mg/ml dans le méthanol sauf l'extrait aqueux dans l'eau distillée), trois répétitions ont été effectuées pour chaque extrait. Les tubes à essai ont été incubés en obscurité à la température du laboratoire. Deux tubes contrôle ont été aussi préparés avec la même procédure, l'un contenant un antioxydant de référence BHT (contrôle positif) et l'autre sans antioxydant (contrôle négatif) où l'échantillon est remplacé par 350 $\mu$ l de méthanol [127].

La cinétique de décoloration de l'émulsion en présence et en absence d'antioxydant est suivie à 490 nm à des intervalles de temps réguliers pendant 48 heures. L'activité antioxydante relative des extraits (AAR) est calculée selon l'équation suivante :

$$AAR\% = [Abs_{48h}(\text{échantillon})/Abs_{48h}(\text{BHT})] \times 100.$$

**N.B :** le BHT est utilisé comme contrôle positif, dans les deux méthodes de l'évaluation de l'activité antioxydantes (DPPH et blanchissement du  $\beta$ -carotène), et aux mêmes conditions expérimentales.

### VIII.4.2. Réalisation des activités antimicrobiennes :

Dès la naissance l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutané-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise [128].

L'activité antimicrobienne a été évaluée par deux méthodes :

- Méthode de micro-dilutions sur milieu liquide.
- Méthode de diffusion en gélose.

Les souches pures ont été inoculées dans des tubes contenant 5 ml de Brain Heart Infusion (Conda Pronadisa™, Espagne) puis ils ont été incubés à 37°C pendant 18 h. Une concentration de 0,5 McFarland a été réglée et qui correspond à 107 UFC/ml selon le Clinical and Laboratory Standards Institute [129].

#### **\*Méthode de diffusion en gélose :**

La sensibilité des souches à l'huile a été testée par la méthode décrite par Bauer et coll(1966) [130]. En bref, une culture de 18-24 h des souches testées sur bouillon Müller-Hinton a été préparé à une concentration de 107 UFC / ml et ensuite ensemencé sur gélose Müller-Hinton (Fluka BioChemika, Espagne) et Sabouraud (Fluka BioChemika, Espagne). Un disque de 6 mm de diamètre stérile imprégnée avec 5 µL d'huile a été déposé dans des conditions aseptiques au centre de la plaque inoculée.

#### **\*Méthode de micro-dilutions sur milieu liquide :**

La concentration minimale inhibitrice a été calculée par la méthode de microplaque (96 puits) à fond rond suivant la méthode modifiée à partir de Wiegand et coll. , (2008) [132]. L'huile essentielle a subi une dilution successive par 1/2 dans des tubes contenant le bouillon Müller- Hinton (Fluka Bio Chemika, Espagne) par l'ajout de Tween 80 à une concentration de 1 % (v / v) pour obtenir une solution homogène d'huile et du bouillon. On a préparé une seconde solution qui contient seulement le bouillon Müller -Hinton et du Tween 80 à une concentration de 1%, cette concentration a été utilisée en tant qu'un blanc. Les inoculums de 107 UFC/ml ont été dilués de 1/100 pour une concentration de 105UFC/ml. Sur les microplaques, 180 µl de la suspension bactérienne 105UFC/ml ont été déposés à l'intérieur des puits. Ensuite, 20 µl de la solution de l'huile a été ajouté. La concentration finale du Tween 80 dans chaque puits est de 0,1% (v/v) à et les concentrations finales de l'huile essentielle ont varié de 0,0078 % à 4%.

### **VIII. 4.3. L'activité antifongique (in vivo) :**

Ce teste a été réalise sur les fruits de fraise. Elles ont été sélectionné propre et sans rameaux et le plus possible homogène en taille et en maturité. La surface des fraises a été désinfectée en les émergeant dans une solution d'éthanol 70% pendant 2 min, puis laver rigoureusement par l'eau distillée et laisser dans un endroit sec pour débarrasser l'excès de l'eau jusqu'à utilisation pour test *in vivo*. Une souche pathogène responsable de la pourriture des fraises qui est *Botrytis cinerea* a été isolées à partir des fruits de fraise et identifier par les méthodes d'identification morphologique standard [134].

Pour les tests antifongiques *in vivo*, nous avons utilisé la méthode décrite par Dikbas et coll, (2008) [135]. Les fruits secs désinfectés ont été émergés dans l'hydrolat de *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia* pendant 10 min puis séchés à l'air libre. Le teste a été répété 5 fois (5 fraises). Un control positive a été préparé en suivant les même étapes mais sans ajout les hydrolats. L'ensemble des sujets ont été troués (profondeur de 3 mm) a l'aide d'une pipette pasteur stérile. Les tests de pathogénicité des souches a été développés en injectant 100 µl de la suspension fongique au milieu des trous. les fruits ont été scelles dans des boites dans deux températures différente 28c° (température ambiante) et à 4c° (frégo).

## IX. Références bibliographiques :

- [1] K. Lahrech, "Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* l. et de *Saccocalyx satireioide*. Tests d'activites antibacteriennes et antifongiques," Theses, Universite d'Oran Es-Senia, Oran, 2010.
- [2] M. EL Arch, B. Satrani, A. Farah, L. Bennani, D. Boriky, M. Fechtal, M. Blaghen, and M. Talbi, "Composition chimique et activités antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc," *Acta Bot. Gallica Bot. Lett.*, vol. 150, no. 3, pp. 267–274, 2003.
- [3] M. Benbouali, "Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de : '*Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris*,'"Mémoire de magister, Université Hassiba Ben Bouali, Chlef, 2006.
- [4] L. F. Silva, M. das G. Cardoso, L. R. Batista, M. de S. Gomes, L. M. A. Rodrigues, D. A. de C. S. Rezende, M. L. Teixeira, M. S. S. Carvalho, J. de A. Santiago, and D. L. Nelson, "Chemical characterization, antibacterial and antioxidant activities of essential oils of *Mentha viridis* l. and *Mentha pulegium* l. (l)," *Am. J. Plant Sci.*, vol. 6, pp. 666–675, 2015.
- [5] M. Piochon, "Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse," Mémoire, Université du Québec ,Québec, 2008.
- [6] S. Chibani, "Etude phytochimique et biologique de six plantes médicinales de l'est Algerien." Thèse, Université Mentouri Constantine, Constantine, 2013.
- [7] N. Benayad, "Les huiles essentielles extraites des plantes medicinales Marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrees alimentaires stockees,"Mémoire, Université Kasdi Merbah , Ourgla, 2008.
- [8] "[http://www.boitearecettes.com/epices/epice\\_menthe.htm](http://www.boitearecettes.com/epices/epice_menthe.htm)" .
- [9] M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, A. Carlier, and G. Lognay, "Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie," *Biotechnol Agron Soc Env.*, vol. 11, no. 1, 2007.
- [10] F. Z. Benomari, "Caracterisation chimique et activites biologiques des volatils de *Mentha aquatical*. (domrane) de l'ouest algerien." Mémoire, Tlemcen, 2014.
- [11] "<http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/menthe.htm>" .
- [12] "<http://flore.lecolebuissonniere.eu/page99.html>" .
- [13] A. Bordas and E. Bermejo, "Les huiles essentielles un nouveau regard sur les plus anciens remèdes et cosmétiques connus." Espagnol, 2012.
- [14] Michel Krausz, "Huiles essentielles : un marché mondial en croissance."France, 2015.
- [15] "<http://www.novotaste.com/fr/content/la-dynamique-de-march%C3%A9-des-huiles-essentielles>."
- [16] S. Sutour, "Etude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthe de Corse et de Kumquats," Université de Corse, Corse, 2011.
- [17] "<http://www.algerielle.com/beaute/esthetique/1209-huiles-essentielles-pas-tres-en-vogue-en-algerie.html>."

- [18] “ <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/p/pennyroyal.html>.”
- [19] “ <http://www.piscinemaroc.com/fr/huiles-essentielles/156-huile-essentielle-menthe-pouliot.html>.”
- [20] N. Beghidja, N. Bouslimani, F. Benayache, S. Benayache, and J. C. Chalchat, “Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria,” *Chem. Nat. Compd.*, vol. 43, no. 4, pp. 481–483, 2007.
- [21] N. Beghidja, N. Bouslimani, F. Benayache, S. Benayache, and J. C. Chalchat, “Composition of the oils from *Mentha pulegium* grown in different areas of the east of Algeria,” *Chem. Nat. Compd.*, vol. 43, no. 4, pp. 481–483, 2007.
- [22] C. Bouchra, M. Achouri, L. M. Idrissi Hassani, and M. Hmamouchi, “Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against *Botrytis cinerea* Pers: Fr,” *Phytochem*, vol. 89, pp. 165–69, 2003.
- [23] A. Ait-Ouazzou, S. Lorán, A. Arakrak, A. Laglaoui, C. Rota, A. Herrera, R. Pagán, and P. Conchello, “Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity of *Mentha pulegium*, *Juniperus phoenicea*, and *Cyperus longus* essential oils from Morocco,” *Food Res. Int.*, vol. 45, no. 1, pp. 313–319, 2012.
- [24] N. Benayad, W. Ebrahim, A. Hakiki, and M. Mosaddak, “Chemical characterization and insecticidal evaluation of the essential oil of *Mentha suaveolens*L. and *Mentha pulegium*L. growing in Morocco,” *Sci. Study Res. Chem. Chem. Eng. Biotechnol. Food Ind.*, vol. 13, no. 1, pp. 27–32, 2012.
- [25] S. Zantar, R. Haouzi, M. Chabbi, A. Laglaoui, M. Mouhib, M. Boujnah, M. Bakkali, and M. H. Zerrouk, “Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils,” *Radiat. Phys. Chem.*, vol. 115, pp. 6–11, 2015.
- [26] M. M. Chopra, V. N. Vashist, and K. L. Handa, “Essential oil of *Mentha pulegium* from Jammu and Kashmir,” *Indian Oil Soap*, vol. 30, no. 2, pp. 41–5, 1964.
- [27] D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila, and S. Cañigueral, “Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay,” *Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J.*, vol. 45, no. 2, pp. 519–524, 2002.
- [28] A. Costa and J. Fernandes, Do Vale, “Essential oil of *Mentha pulegium*,” *Not. Farm*, vol. 18, pp. 106–12, 1952.
- [29] C. Sarikurkcü, F. Eryigit, M. Cengiz, B. Tepec, A. Cakir, and E. Mete, “Screening of the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Mentha pulegium* L. from Turkey,” *Spectrosc. Lett. Int. J. Rapid Commun.*, vol. 45, no. 5, pp. 352–358, 2012.
- [30] S. Kokkini, E. Handilou, R. Karousou, and T. Lanaras, “Variations of pulegone content in pennyroyal (*Mentha pulegium*L.) plants growing wild in Greece,” *J. Essent. Oil Res.*, vol. 14, pp. 224–227, 2002.
- [31] J. H. Zwing and D. Smith, “Composition of the essential oil of Austrian *Mentha pulegium*,” *Phytochemistry*, vol. 10, no. 8, pp. 1951–1953, 1971.
- [32] E. Derwich, Z. Benziane, and A. Boukir, “Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco,” *Ejeafche E-J Envir Agric Food Chem*, vol. 9, no. 1, pp. 19–28, 2010.
- [33] N. Zekri, S. Amalich, A. Boughdad, M. A. El Belghiti, and T. Zair, “Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus Oryzae*,” *Mediterr. J. Chem.*, vol. 2, no. 4, pp. 607–619, 2013.
- [34] L. Cherrat, L. Espina, M. Bakkali, R. Pagán, and A. Laglaoui, “Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes,” *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, vol. 22, pp. 221–229, Apr. 2014.
- [35] A. Sivropoulou, S. Kokkini, T. Lanaras, and M. Arsenakis, “Antimicrobial activity of mint essential oils,” *J Agric Food Chem*, vol. 43, pp. 2384–2388, 1995.
- [36] C. Cook, E. Maloupa, S. Kokkini, and T. Lanaras, “Differences between the inflorescence, leaf and stem essential oils of wild *Mentha pulegium* L plants from Zakynthos Greece,” *J. Essent. Oil Res.*, vol. 12, pp. 598–600, 2000.

- [37] S. Kokkini, E. Hanlidou, R. Karousou, and T. Lanaras, "Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 16, no. 6, pp. 588–593, 2004.
- [38] C. M. Cook, E. Maloupa, S. Kokkini, and T. Lanaras, "Differences between the inflorescence, leaf and stem essential oils of wild *Mentha pulegium* plants from Zakynthos, Greece," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, no. 3, pp. 239–243, 2007.
- [39] E. A. Petrakis, A. C. Kimbaris, C. S. Pappas, P. A. Tarantilis, and M. G. Polissiou, "Quantitative determination of pulegone in pennyroyal oil by FT-IR spectroscopy," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 57, no. 21, pp. 10044–10048, 2009.
- [40] H. Boukhebt, A. N. Chaker, H. Belhadj, F. Sahli, M. R. Ramdhani, H. Laouer, and Daoud Harzallah, "Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils," *Pharm. Lett.*, vol. 3, no. 4, pp. 267–275, 2011.
- [41] H. Ouakouak, M. Chohra, and M. Denane, "Chemical composition, antioxidant activities of the essential oil of *Mentha pulegium* L. south east of Algeria," *Int. Lett. Nat. Sci.*, vol. 39, pp. 49–55, 2015.
- [42] B. Teixeira, A. Marques, C. Ramos, I. Batista, C. Serrano, O. Matos, N. R. Neng, J. M. F. Nogueira, J. A. Saraiva, and M. L. Nunes, "European pennyroyal (*Mentha pulegium*) from Portugal: Chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil," *Ind. Crops Prod.*, vol. 36, no. 1, pp. 81–87, 2012.
- [43] L. Rodrigues, O. Póvoa, G. Teixeira, A. C. Figueiredo, M. Moldão, and A. Monteiro, "Trichomes micromorphology and essential oil variation at different developmental stages of cultivated and wild growing *Mentha pulegium* L. populations from Portugal," *Ind. Crops Prod.*, vol. 43, pp. 692–700, 2013.
- [44] K. Başer, M. Kürkcüoğlu, G. Tarımıcılar, and G. Kaynak, "Essential oils of *Mentha* species from northern Turkey. *J. Essent. Oil*," vol. 11, pp. 579–588, 1999.
- [45] F. J. Müller-Riebau, B. M. Berger, O. Yegen, and C. Cakir, "Seasonal variations in the chemical compositions of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 45, no. 12, pp. 4821–4825, 1997.
- [46] H. Yasa, H. Ç. Onar, and A. S. Yusufoglu, "Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bodrum, Turkey," *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 15, no. 6, pp. 1040–1043, 2012.
- [47] N. Aghel, Y. Yamini, A. Hadjiakhoondi, and S. Pourmortazavi, "Supercritical carbon dioxide extraction of *Mentha pulegium* L. essential oil," *Talanta* 62 407-411, vol. 62, pp. 407–411, 2004.
- [48] M. Mahboubi and G. Haghi, "Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil," *J. Ethnopharmacol.*, vol. 119, no. 2, pp. 325–327, 2008.
- [49] A. Khalilipour and M. Dejam, "Essential oil composition of Pennyroyal (*Mentha pulegium* L.) from Southern Iran," *J. Herb. Drugs*, vol. 5, no. 1, pp. 33–38, 2014.
- [50] M. A. Khosravi Zanjani, N. Mohammadi, M. Zojaji, and H. Bakhoda, "Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. and its antimicrobial activity on *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis* and *Zygosaccharomyces rouxii*," *J. Food Biosci. Technol. Islam. Azad Univ. Sci. Res. Branch*, vol. 5, no. 2, pp. 31–40, 2015.
- [51] M. Mkaddem, M. Boussaid, and N. B. Fadhel, "Variability of volatiles in Tunisian *Mentha pulegium* L. (*Lamiaceae*)," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 19, no. 3, pp. 211–214, 2007.
- [52] B. Marzouk, M. Ben HadjFredj, I. Chraief, M. Mastouri, K. Boukef, and Z. Marzouk, "Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L.," *Food Agriculture Environ. JFAE*, vol. 6, no. 1, pp. 78–82, 2008.
- [53] H. Hajlaoui, N. Trabelsi, E. Noumi, M. Snoussi, H. Fallah, R. Ksouri, and A. Bakhrouf, "Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine," *World J. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 25, pp. 2227–2238, 2009.
- [54] P.M. Soares, A.M. Assreuy, E.P. Souza, R.F. Lima, T.O. Silva, S.R. Fontenele, and D.N. Criddle, "Inhibitory effects of the essential oil of *Mentha pulegium* on the isolated rat myometrium," *See Comment PubMed Commons Planta Med*, vol. 71, no. 3, pp. 214–8, 2005.
- [55] A. Stoyanova, E. Georgiey, J. Kula, and T. Maida, "Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Bulgaria," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 17, no. 5, pp. 475–476, 2005.

- [56] V. Agnihotri, S. Agarwal, P. Dhar, R. Thappa, B. Kapahi, R. Saxena, and G. Qazi, "Essential oil composition of *Mentha pulegium* growing wild in the north-western Himalayas India.," *Flavour Fragr.*, vol. 20, pp. 607–610, 2005.
- [57] Y. Fujita and S. Fujita, "Essential oil of *Mentha pulegium* and *M. gratte fosseiview* from the standpoint of comparative biochemistry," *Nippon Kagaku Zasshi*, vol. 88, pp. 767–768., 1967.
- [58] O. Sticher and H. Flück, "Die Zusammensetzung von genuinen, extrahierten und destillierten ätherischen Ölen einiger *Mentha*-Arten.," *Pharm Acta Helv* 43, vol. 43, pp. 411–446, 1968.
- [59] S. Kokkini, E. Handilou, and R. Karouscou, "Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece.," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 16, pp. 588–93., 2004.
- [60] M. Lawrence, "A study of the monoterpene interrelationships of the genus *Mentha* with special reference to the origin of pulegone and menthofuran," Netherlands, 1978.
- [61] J. A. Pino, A. Rosado, and V. Fuentes, "Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 8, no. 3, 1996.
- [62] J.-C. Chalchat, M. S. Gorunovic, Z. A. Maksimovic, and S. D. Petrovic, "Essential oil of wild growing *Mentha pulegium*L. from Yugoslavia," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 12, no. 5, pp. 598–600, 2000.
- [63] A. H. El-Ghorab, "The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity," *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 9, no. 2, pp. 183–195, 2006.
- [64] Chemonics International, "Strategie nationale de developpement du secteur des plantes aromatiques et medicinales." Agriculture & Agrobusiness Integres, Mission USAID/Maroc, 2008.
- [65] "<http://www.leshuiles.com/huiles-essentielles/huiles-essentielles/>."
- [66] "<http://www.bristolbotanicals.co.uk/pr-6860>."
- [67] "<http://www.iboa.fr/huiles-essentielles-pures-et-naturelles-oshadhi-france/1237-huile-essentielle-Menthe-pouliot-Sauvage-Mentha-pulegium.html>."
- [68] "<http://www.bivea.fr/Huile-essentielle-Menthe-pouliot-PRANAROM-8599-p>."
- [69]"[http://www.naturosources.com/produits.html?page=shop.product\\_details&flypage=flypage.tpl&product\\_id=101&category\\_id=39](http://www.naturosources.com/produits.html?page=shop.product_details&flypage=flypage.tpl&product_id=101&category_id=39)"
- [70]"<http://www.mes-huiles-essentielles.com/catalogsearch/result/?q=mentha+pulegium&x=0&y=0> "
- [71] " <http://www.ormenis.com/huile-essentielle-m/1275-menthe-pouliot-hect.html>".
- [72] "<http://www.aroma-zen.com/huiles-essentielles/huiles-essentielles-chemotypes/menthe-pouliot-mentha-pulegium-10ml-pranarom-p-1761.html>".
- [73] "[https://www.gaiarome.com/huiles-essentielles/285-menthe-pouliot.html#new\\_comment\\_form](https://www.gaiarome.com/huiles-essentielles/285-menthe-pouliot.html#new_comment_form)".
- [74] "<http://www.aromatherapie-huiles-essentielles.com/les-huiles-essentielles-interdites/.html>".
- [75] "<http://www.hierbamedicinal.es/propiedades-medicinales-de-la-mentha-rotundifolia>".
- [76] L. Riahi, M. Elferchichi, H. Ghazghazi, J. Jebali, S. Ziadi, C. Aouadhi, H. Chograni, Y. Zaouali, N. Zoghlami, and A. Mliki, "Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia," *Ind. Crops Prod.*, vol. 49, pp. 883–889, 2013.
- [77] D. Lorenzo, D. Paz, E. Dellacassa, P. Davies, R. Vila, and S. Canigueral, "Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay," *Braz. Arch. Biol. Technol. Int. J.*, vol. 45, no. 4, pp. 519–524, 2002.
- [78] S. Fujita and K. Nezu, "Components of essential oils of *Mentha rotundifolia* (linn.) huds. ii(studies on the essential oils of the genus *Mentha*. Par.," *Agric. Chem. Soc.*, vol. 59, no. 7, pp. 703–706, 1985.
- [79] E. Derwich, Z. Benziane, and A. Boukir, "Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco.," *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, vol. 9, no. 1, pp. 19–28, 2010.
- [80] A. Ansari, M. Znini, A. Laghchimi, J. Costa, P. Ponthiaux, and L. Majidi, "Chemical composition, adsorption properties and corrosion inhibition on mild steel of *Mentha rotundifolia*L. essential oil from Morocco," *Sch. Res. Libr. Pharm. Lett.*, vol. 7, no. 6, pp. 125–140, 2015.

- [81] S. Shimizu, "Studies of the essential oil of *Mentha rotundifolia*," *Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 20, no. 2, pp. 84–88, 1956.
- [82] S. Shimizu, "Studies on the essential oil of *Mentha rotundifolia*," *Bull. Agric. Chem. Soc. Jpn.*, vol. 21, no. 2, pp. 107–114, 1957.
- [83] M. D. P. Raya, M. P. Utrilla, M. C. Navarro, and J. Jiménez\*, "CNS activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha longifolia* essential oil in mice and rats," *Phytother. Res.*, vol. 4, no. 6, pp. 232–234, 1990.
- [84] S. Kokkini and V. P. Papageorgiou, "Constituents of essential oils from *Mentha X rotundifolia* growing wild in Greece.," *Planta Med.*, vol. 54, no. 2, pp. 166–167, Apr. 1988.
- [85] M. Brada, M. Bezzina, M. Marlier, and G. C. Lognay, "Chemical composition of the leaf oil of *Mentha rotundifolia* (L.) from Algeria," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 18, no. 6, pp. 663–665, 2006.
- [86] J. Wang, R. Li, J. Tan, and Z.-T. Jiang, "Effect of drying on essential oil yields and chemical composition of pineapple mint (*Mentha rotundifolia* 'variegata') from China," *J. Essent. Oil Bear. Plants*, vol. 16, no. 5, pp. 630–635, 2013.
- [87] J. A. Pino, A. Rosado, and V. Fuentes, "Chemical composition of the leaf oil of *Mentha rotundifolia* (L.) Hudson from Cuba," *J. Essent. Oil Res.*, vol. 11, no. 2, pp. 241–242, 1999.
- [88] R. I. Moldovan and R. Oprean, "Comparative study of essential oil from two species of mint grown in Orăștie," *Farmacia*, vol. 62, no. 1, 2014.
- [89] Y. Oka, S. Nacar, E. Putievsky, U. Ravid, Z. Yaniv, and Y. Spiegel, "Nematicidal Activity of essential oils and their components against the root-knot nematode," *Am. Phytopathol. Soc.*, vol. 90, no. 7, pp. 710–715, 2000.
- [90] M. D. P. Raya, M. P. Utrilla, M. C. Navarro, and J. Jiménez, "CNS activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha longifolia* essential oil in mice and rats," *Phytother. Res.*, vol. 4, no. 6, pp. 232–234, 1990.
- [91] "<http://www.dolce-terra.com/menthes>." .
- [92] "[http://www.amazon.de/Briten-BetriebsBotanik-FarbDruck-Mentha-Sowbery-Rotundifolia/dp/B00AEMR1G0/ref=sr\\_1\\_6?ie=UTF8&qid=1463056588&sr=8-6&keywords=mentha+rotundifolia](http://www.amazon.de/Briten-BetriebsBotanik-FarbDruck-Mentha-Sowbery-Rotundifolia/dp/B00AEMR1G0/ref=sr_1_6?ie=UTF8&qid=1463056588&sr=8-6&keywords=mentha+rotundifolia)" .
- [93] "[http://www.amazon.de/Apfelminze-Mentha-rotundifolia-Egyptian-Minze/dp/B00K4O71K4/ref=sr\\_1\\_2?srs=4802999031&ie=UTF8&qid=1463056483&sr=8-2&keywords=mentha+rotundifolia](http://www.amazon.de/Apfelminze-Mentha-rotundifolia-Egyptian-Minze/dp/B00K4O71K4/ref=sr_1_2?srs=4802999031&ie=UTF8&qid=1463056483&sr=8-2&keywords=mentha+rotundifolia)" .
- [94] N. Bousbia, "Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires," Université d'Avignon et des pays de Vaucluse, Algérie, 2011.
- [95] AFNOR. "Normes AFNOR recueil des normes françaises. huiles essentielles," Paris, 1992.
- [96] S. . Maisonneuve, *Pharmacopée Européenne I Conseil de l'Europe*, Sainte Ruffine. 1996.
- [97] K. Nait Achour, "Etude de la composition chimique des essences de quatre espèces d'eucalyptus poussant dans la région de Tizi Ouzou," Mémoire de magister, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, 2012.
- [98] "Apparatus for volatile oil determination, description of new type J.F.Clevenger," *American Perfumer and Essential oil*, pp. 467–503, 1928.
- [99] D. Joulain, "Method for analysing essential oil. modern analysis methodologies: use and abuse, perfum.," *Flavor*, vol. 19, pp. 5–17, 1994.
- [100] J. Paolini, "Caractérisation des huiles essentielles par CPG/Ir, CPG/SM-(IE ET IC) et RMN du carbone-13 de *Cistus albidus* et de deux *Asteraceae* endémiques de Corse: *Eupatorium cannabinum* subsp. *corsicum* et *Doronicum corsicum*," Université de Corse Pascal Paoli Faculté des sciences et techniques, Corse, 2005.
- [101] C. Bicchi, E. Liberto, M. Matteodo, B. Sgorbini, L. Mondello, B. d' Acompara Zellner, R. Costa, and P. Rubiolo, "Quantitative analysis of essential oils: a complex task," *Flavour Fragr J*, vol. 23, pp. 382–391, 2008.
- [102] R. Anton and A. Lobskin, "Plantes aromatiques. épices, aromates, condiments et huiles essentielles," Paris, p. 522, 2005.
- [103] W. Jennings and T. Shibamoto, "Qualitative analysis of flavour and fragrance volatiles by glasscapillary gas chromatography, jovanovitch h.b." Academic Press, New-York, 1980.

- [104] D. Joulain and W. König, "The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons, hambourg," Verlag: E.B.-Verlag, Hamburg, Germany, 1998.
- [105] W. Köning, D. Hochmuth, and D. Joulain, "Terpenoids and related constituents of essential oils," *Library Of Massfinder 2.1, Institute Of Organic Chemistry*, Hamburg, Germany, 2001.
- [106] F. McLafferty and D. Stauffer, "The wiley/nbs registry of mass spectral data, wiley interscience". New York, 1988.
- [107] F. McLafferty and D. Stauffer, "Wiley registry of mass spectral data, mass spectrometry library search system bench-top/pbm, version 3.10". Newfield, 1994.
- [108] R. Adams, "Identification of essential oil components by gaz chromatography / quadrupole mass spectroscopy," *Allured Publishing, Carol Stream, Illinois*, 2001.
- [109] "National Institute Of Standards And Technology. PC Version 1.7 Of The NIST/EPA/NIH Mass Spectra Library." Perkin-Elmer Corp: Norwalk, U.S.A. CT, 1999.
- [110] P. Mariott, R. Shellie, and C. Cornwell, "Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils," *J Chromatogr A*, vol. 936, pp. 1–22, 2001.
- [111] P. Hadjieva, P. Sandra, B. Stoinova-Ivanova, and M. Verzele, "Open tubular gas chromatography mass spectral « electron impact and chemical ionization » - analysis of Bulgarian rose oil (*Rosa Damascena* Mill.)," *Riv. Ital. EPPOS*, vol. 62, pp. 367–372, 1980.
- [112] R. Dougherty, "Negative chemical ionization mass spectrometry," *Anal Chem*, vol. 53, pp. 625–636, 1981.
- [113] H. Hendriks and A. . Bruins, "A tentative identification of components in the essential oil of cannabis sativa l. by a combination of gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry and retention indices," *Biochem Mass Spectrom*, vol. 10, pp. 377–381, 1983.
- [114] E. De Hoffmann, J. Charette, and V. Stroobant, "Spectrométrie de masse," *Masson*, Paris, 1994.
- [115] M. Zupanc, M. Prošek, and M. Dušan, "Combined ci and ei mass spectra in the analysis of essential oils," *J High Res Chromatogr*, vol. 15, pp. 510–513, 1992.
- [116] B. Marquez, "Bacterial efflux systems and efflux pumps inhibitors," *Biochimie*, vol. 87, pp. 1137–1147, 2005.
- [117] P. Arpino, "L'ionisation chimique une façon de modéliser les réactions de chimie organique dans un spectromètre de masse," *L'actualité Chim.*, vol. 4, pp. 19–28, 1982.
- [118] G. Vernin and C. Lageot, "Couplage CPG/SM pour l'analyse des arômes et des huiles essentielles," *Analysis*, vol. 20, pp. 34–39, 1992.
- [119] D. Butterfield and C. Lauderback, "Lipid peroxidation and protein oxidation in alzheimer's disease brain potential causes and consequences in volving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative stress," *Free Radic Biol Med*, vol. 32, pp. 1050–1060, 2002.
- [120] K. Le, F. Chiu, and K. Ng, "Identification and quantification of antioxidants in Fructus lycii," *Food Vv Chem.*, vol. 105, pp. 353–363, 2007.
- [121] N. Kartal, M. Sokmen, B. Tepe, D. Daferera, M. Polissiou, and A. Sokmen, "Investigation of the antioxidant properties of Ferula orientalis L. using a suitable extraction procedure," *Food Chem.*, vol. 100, pp. 584–589, 2007.
- [122] C. El Kalamouni, "Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées," Doctorat de l'université de Toulouse, Toulouse, 2010.
- [123] G. Yakhlef, "Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurus nobilis* L.," Université El Hadj Lakhdar, Batna, 2010.
- [124] C. Sanchez-Moreno, "Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems," *Food Sci. Technol. Int. June*, vol. 8, no. 3, pp. 121–137, 2002.
- [125] A. Mansouri, G. Embarek, E. Kokkalou, and P. Kefalas, "Phenolic profile and antioxidant activity of the algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*)," *Food Chem*, vol. 89, pp. 411–420, 2005.
- [126] M. Oyaizu, "Studies on products of browning, reaction-antioxydant activities of products of browning reaction prepared from Glucosamine," vol. 44, pp. 307–315, 1986.
- [127] B. Tepe, M. Sokmen, H.A. Akpulat, and A. Sokmen, "Screening of the antioxidant potentials of six salvia species from Turkey," *Food Chem*, vol. 95, pp. 200–204, 2005.
- [128] S. Kaufmann, "Host response to intracellular pathogens," New York, p. 345, 1997.
- [129] M. A. Pfaller, L. Boyken, R. J. Hollis, S. A. Messer, S. Tendolkar, and D. J. Diekema, "In vitro susceptibilities of clinical isolates of candida species, cryptococcus neoformans, and aspergillus

- species to itraconazole: global survey of 9,359 isolates tested by clinical and laboratory standards institute broth microdilution methods,” *J Clin Microbiol*, vol. 43, no. 8, pp. 3807–3810, 2005.
- [130] A. W. Bauer, W. M. M. Kirby, J. C. Sherris, and M. Turck, “Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method,” *Am J Clin Pathol*, vol. 45, no. 4, p. 493, 1966.
- [131] M. Hombach, G. V. Bloemberg, and E. C. Böttger, “Effects of clinical breakpoint changes in clsi guidelines 2010/2011 and eucast guidelines 2011 on antibiotic susceptibility test reporting of gram-negative bacilli,” *J Antimicrob Chemother*, vol. 67, no. 3, pp. 622–632, 2012.
- [132] T. Wiegand, C. V. Gunatilleke, and I. A. U. Gunatilleke, “Species associations in a heterogeneous sri lankan dipterocarp forest,” *Am. Nat.*, vol. 170, pp. 77 – 95, 2007.
- [133] “<http://www.wikiphyto.org/wiki/Menthone>.”
- [134] M.A. Klich, “Identification of common *Aspergillus* species. ” Utrecht, Pays –Bas : Central bureau voor Schimmelen cultures, 2002.
- [135] N. Dikbas, F. Kotan, et F. Sahin, “Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*, ” *Int.J.Food Microbiol.*, vol. 124, pp. 179-182, 2008.

## RESUME

Notre travail s'est basé principalement sur une étude de la variabilité chimique et l'intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages de l'ouest algérien: *Mentha pulegium* et *Mentha rotundifolia*. Ces deux menthes, largement répandue en Algérie, de la famille des *Lamiaceae* sont connus dans le monde pour leurs propriétés thérapeutiques (antiseptique, antinévralgique, analgésique...) et l'intérêt économique de leurs huiles essentielles.

Les extractions des huiles essentielles des deux espèces de menthe, par hydrodistillation, ont donné des rendements compris entre 0.24 à 2.91 % pour *Mentha pulegium* et 0.27 à 2.95% pour *Mentha rotundifolia*. L'étude de la variabilité chimique de ces huiles essentielles a permis l'identification de 2 chémotypes pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*, et 3 chémotypes pour l'huile de *Mentha rotundifolia*. Ces résultats peuvent aider les industriels à mieux choisir les lieux et période de récolte de ces deux plantes aromatiques à des fins de production de leurs huiles essentielles à l'échelle industrielle.

Afin pour mieux valoriser notre travail, nous avons opté pour l'étude des activités biologiques : antioxydante, antibactérienne et antifongique des huiles essentielles et des hydrolats des deux menthes. Ces travaux ont donné des résultats très prometteurs ouvrant la voie à leur utilisation dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire.

**Mots-clés :** Composés volatils, *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia*, Activités biologiques, Intérêt économique.

## ABSTRACT

Our work is based mainly on a study of the chemical variability and economic interest of the essential oils of two wild mints: *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* in western Algeria. Both mints, widespread in Algeria, of the family *Lamiaceae* is a native herb of many therapeutic properties (antiseptic, anti-neuralgic, analgesic ...) and the economic interest of their essential oils.

The extraction of essential oils of mint two species were accomplished by steam distillation, the yields are between 0.24 to 2.91% for *Mentha pulegium*, and between 0.27 to 2.95% for *Mentha rotundifolia* and may be cost effective on an industrialscale. The set of results obtained in the analysis of several stations allowed us to identify two chemotypes for essential oil *Mentha pulegium* and 3 chemotypes for oil *Mentha rotundifolia*. These results can help manufacturers better choose the places and period of harvesting of these aromatic plants for production of their essential oils on an industrialscale.

In order to better promote our work the economic interests of the two mints in our region, we opted for the study of antioxidant activity, antibacterial, antifungal and also *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* and have remarkable data results and in particular the hydrosol extract. This work has given very promising results paving the way for their use in the pharmaceutical and food industries.

**Keywords:** volatiles, *Mentha pulegium*, *Mentha rotundifolia*, Biological Activities, Economic interest.

## المخلص

العمل المقترح يهدف لدراسة التغير الكيميائي والفائدة الاقتصادية لزيتون أساسية من النعناع البري في غرب الجزائر. النعناع، نبتة منتشرة بكثرة في الجزائر، و تنتمي إلى العائلة الشفوية ويتميز بالعديد من الخصائص العلاجية (مطهر، مضاد للعصبية، مسكن...). تم استخلاص الزيوت الطيارة لنوعين من النعناع بواسطة التبخير المائي، وقد تحصلنا على مردود ما بين 0.24 و 2.91 بالنسبة لـ *Mentha pulegium* وما بين 0.27 و 2.95 بالنسبة لـ *Mentha rotundifolia* ويعتبر هذا المردود مقبولا جدا على المستوى الصناعي. سمحت لنا مجموعة من النتائج التي تم الحصول عليها من خلال تحليل الزيوت الطيارة لنبتة النعناع مأخوذة من عدة مناطق بالتعرف على نمطين كيميائيين بالنسبة لـ *Mentha pulegium* و ثلاثة أنماط بالنسبة لـ *Mentha rotundifolia*. ويمكن لهذه النتائج أن تساعد الشركات المصنعة على اختيار أفضل الأماكن وفترة حصاد هذه النباتات العطرية لإنتاج زيوتها الأساسية على نطاق صناعي.

و للزيادة من تعزيز المصالح الاقتصادية للنعناع في منطقتنا، قمنا بدراسة النشاط المضاد للأوكسدة، مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات، بالنسبة لـ *mentha pulegium* وكذلك *Mentha rotundifolia* مما أعطت نتائج جيدة بالنسبة للمياه العطرية.

**الكلمات المفتاحية:** الزيوت الطيارة-الأنشطة البيولوجية- المصالح الاقتصادية -*Mentha rotundifolia*- *Mentha pulegium*.