République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed DRAÏA - Adrar

Code :

جامعة أحمد دراية ـ أدرار

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département de Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de Master en :

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème :

EXTRACTION D'HUILLE ESSENTIELLE ET L'ACTIVITE ANTI-OXYDANTE DE LA PLANTE *MENTHA PULIGUIM*

Préparé par :

M$^{lle.}$ BEN KADI Yasmin

Mlle. ABDENABI Kenza

Mlle. DRAOUI Khadidja

Membres de jury d'évaluation :

Mme. HADEF Kawla	Président	MCA	Univ. Adrar
Mlle . CHERGUI Yamina	Encadreur	MCB	Univ. Adrar
Mme . RAHMANI Saliha	Examinateur	MAA	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné la volonté et le courage d'arriver au bout de cet humble travail.

Je remercie très sincèrement mon promoteur, Docteur **CHERGUI. Y** pour sa supervision, sa riche contribution et ses précieux conseils pour nous aider à réaliser ce travail.

Je remercie Madame **HADEF. K** pour l'honneur qui nous a fait en acceptant de présider notre jury de mémoire. Mes remerciements vont également aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner cette étude de recherche en particulier Docteur **RAHMANI. S**.

J'adresse ma profonde gratitude à tous mes instituteurs et enseignants durant mon cursus universitaire, sans oublier les membres du personnel du laboratoire de l'Université Ahmed Draia, Adrar surtout les ingénieurs **Mr TAIBI. H** et **Mme LALOUT. F.Z.D**

Je tiens également à remercier le Professeur **IDDOU. A**, le directeur du laboratoire des ressources naturelles sahariennes (LRNS), pour les nombreuses explications précieuses et l'assistance technique qu'ils m'ont apportée avec leur patience, en plus du grand avantage que j'ai retiré de leur contact avec leur expertise.

Je remercie chaleureusement mes collègues pour leur soutien technique et moral, qui ont été à mes côtés dans les moments les plus difficiles.

MERCI.

Dédicace

Je dédie cet humble travail, qui a été accompli avec la grâce et l'aide de Dieu, à :

-A celui qui je le préfère à moi-même, qui n'a ménagé aucun effort pour mon soutien financier et moral, ma mère bien-aimée, et à l'âme pure de mon père, que dieu ait pitié de lui et lui accorde le plus haut des paradis.

-A mes frères et sœur qui ont grand dans ma vie (djahida, soheyb, moisson) que dieu prolonge leur vie pour moi,

- et à tout l'honorable famille, Darfa Mohamed, Ben othman abd el Rahman, Aissaoui Mohamed , Haddady Mohamed

-Au mari de ma sœur saad et son fils Fouad que dieu les récompense.

-Et à mes amis : Kenza, Khadîdja, Nawal, Samia, Abdo el Djalil, Buthaina, Hanane, Halima, Zainab, Saadia, Saida, Ibtissam, Nassiba, Lakbeira grâce à vous, j'ai vécu des moments heureux.

-Il a prié dieu tout-puissant de prolonger leur vie et de leur fournir des primes

Yasmin

Dédicace

A ma merveilleuse mère, qui m'a comblé de ses prières

A mon cher père.

Ä mon cher mari bien-aimé qui a été mon plus grand soutien depuis le début du voyage

A mes chers frères et soeurs : Elaide ; Mohammed ; Ramdhan ; Wahiba et Inaame et mes cousines surtout mon compagnon Rahma

Aux parents de mon mari, qui sont comme mes parent.

A leurs enfants ; Ahmed ; Yamina ; Halima ; Saida ;Abdelkader ; Abdelwaheb ;Hadja et Ihssen

Atout famille ABDENABI et BENTAYEB

A mes deux amis qui ont partagé ce travail avec moi : Yasmin et Khadija

A tous ceux qui me connaissent de près ou de lion

Kenza

Dédicace

Tout d'abord je remercie Dieu Tout puissant d'avoir fait de cette impatience.

Je dédie mon travail à ma mère, ma bien-aimée, que Dieu prolonge sa vie, qui m'a submergé de ses prières tout au long de mes années d'école, et à cette Yuna, à l'âme de mon cher père, que Dieu ait pitié de lui, et que Dieu fasse de lui l'un des gagnants de Janna al-Ferdows. Nchallah.

Je dédie ce travail à :

Mon mari mon bien aimé qui m'a soutenu et a tendu la main

Mes frères surtout lainé HAWARI et mes sœurs tous en son nom et surtout la petite fille de la maison khawla avec mes meilleurs vœux de réussite.

Sans oublier les amies d'étude Yasmine et Kenza

tout le personnel informatif en général surtout JAIHAN

Et au final je ne peux que remercier tous ceux qui ont partagé ma joie de près ou de loin par un mot ou une prière pour le succès et la réussite Veuillez accepter mes plus hautes expressions d'appréciation et de respect et merci

Khadidja

Résumé

Dans le cadre d'études et de recherches universitaires, nous nous sommes penchés sur la question de l'extraction des huiles essentielles des plantes aromatiques, qui sont utilisées parcimonie dans le désert Algérien, plus précisément dans les régions d'Adrar et d'Ain Salah, pour certaines, elles sont utilisées à des fins alimentaires, et l'autre pour traitement.

La plante médicinale et aromatique est la phyllo (*Mentha pulegium*), est très volatile et odorant, et nous avons également abordé l'étude des activités antioxydantes.

Les rendements en huiles essentielles sont plus importants. De plus, le suivi de l'activité antioxydante par deux méthodes chimiques a révélé des capacités anti radicalaires et réductrice remarquables ; huile essentielle du *Mentha pulegium* de l'échantillon cultivé (C) est la plus aptes à inhiber le radical libre DPPH avec une CI_{50} de 868,151µg/ml.

Mots clés : *Mentha pulegium ;* activité antioxydante ; DPPH ; huile essentielle.

Summary

Within the framework of university studies and research, we have looked into the question of the extraction of essential oils from aromatic plants, which are used sparingly in the Algerian desert, more precisely in the regions of Adrar and Ain. Salah, for some they are used for food, and the other for processing.

The medicinal and aromatic plant is phyllo (Mentha pulegium), is very volatile and fragrant, and we have also discussed the study of antioxidant activities.

Yields of essential oils are higher. In addition, the monitoring of the antioxidant activity by two chemical methods revealed remarkable anti-radical and reducing capacities; essential oil of Mentha pulegium from the cultured sample (C) is the most capable of inhibiting the free radical DPPH with an IC50 of 868.151µg/ml.

Keywords: *Mentha pulegium*; antioxidant activity; DPPH; essential oil

ملخص

في إطار الدراسات والأبحاث الجامعية ، بحثنا في مسألة استخلاص الزيوت العطرية من النباتات العطرية ، والتي تستخدم بشكل ضئيل في الصحراء الجزائرية ، وبشكل أدق في منطقتي أدرار وعين صالح بالنسبة للبعض هي تستخدم في الطعام أو في علاج بعض الأمراض.

النبات الطبيو العطري فليو (*Mentha pulegium*) هو من النباتات ذو الرائحة القوية و المتطايرة ، كما قمنا بدراسة فعالية النشاط المضاد للأكسدة.

غلة الزيوت الأساسية أعلى بالإضافة إلى ذلك ، كشفت مراقبة النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين كيميائيتين عن قدرات العينة للنبتة البرية (C) التي كانت الأكثر قدرة و أقوى فعالية مع (DPPH)، و أعطى نتيجة 868.151 ميكرو غرام / مل عند نسبة تفاعل IC 50

الكلمات الرئيسية : زيت أساسي ؛ نبتة الفليو ؛ النشاط المضاد للاكسدة ؛ DPPH.

Liste des Tableaux

N°	Titres	Page
Tableau 1	Intérêts et inconvénients des différents procédés de distillation.	12
Tableau 2	Préparations thérapeutiques de la *Mentha pulegium*.	22
Tableau 3	Classification de *Mentha pulegium*.	25
Tableau 4	Quantités d'huiles essentielles obtenues.	36
Tableau 5	Activités antioxydants des quatre huiles essentielles.	37
Tableau 6	Propriété physique des huiles essentielles d'HE(SA) et d'HE(C).	41

LISTE DES FIGURES

N° de figure	Titres	Page
Figure 1	Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matières végétales.	7
Figure 2	Schéma d'un alambic.	8
Figure 3	Schéma d'une installation d'entrainement à la vapeur.	10
Figure 4	Schéma d'une installation de vapo-hydrodistillation .	11
Figure 5	Schéma d'une installation de distillation sèche.	13
Figure 6	Schéma simplifié d'un extracteur au CO_2 supercritique.	16
Figure 7	*Mentha pulegium*.	20
Figure 8	Photo de *Mentha pulegium*.	24
Figure 9	Feuilles Séchées de *Mentha pulegium*.	27
Figure 10	Les étapes d'extraction des huile essentielle par l'hydrodistillation.	28
Figure 11	Structure chimique du radical libre DPPH.	29
Figure 12	Pouvoir anti-radicalaire par la méthode de DPPH.	30
Figure 13	Protocole de la mise en œuvre du test du radical DPPH.	32
Figure 14	Photo de réfractomètre.	34
Figure 15	Les CI_{50} de piégeage de DPPH des trois types des huiles essentielles de *Mentha pulegium*.	38
Figure 16	La courbe de % radicalaire les huiles essentielles ((ASC), (SA)).	38
Figure 17	La courbe de % radicalaire des ((C), (S)).	39
Figure 18	Capacité antioxydant totale exprimée en mg EAA/g EH les huiles essentielles.	39

SOMMAIRE

Résumé ……. I
Liste des tableaux ……. II
Listes des figures …….. III
Introduction générale …… 1
CHAPITRE I : HUILES ESSENTIELLES
I.1. Historique de l'usage des plants aromatique …….. 3
I.2. L'apparition de l'aromathérapie moderne …….. 3
I.2.1. Aromathérapie …… 3
I.2.2. Aromatologie …… 3
I.2.3. Aromatogramme …… 3
I.2.4. Chemotype(ou Chimiotype) …… 4
I.2.5. Complexe aromatique …… 4
I.2.6. Cultivar …… 5
I.3. DÉFINITION D'UNE HUILE ESSENTIELLE …… 6
I.4 MÉTHODES D'EXTRACTION …….. 7
I.4.1 Hydrodistillation …… 8
I.4.2. Entraînement à la vapeur …… 10
I.4.3. Vapo-hydrodistillation …… 11
I.4.4. Distillation sèche …… 13
I.4.5. Expression à froid …… 13
I.4.6. Enfleurage et extraction par les graisses chaudes …… 14
I.4.7. Extraction par les solvants …… 15
I.4.8. Extraction par le CO_2 supercritique …… 16
I.3.9. Extractions assistées par les micro-ondes …… 17
I.5. TOXICITÉ DES HUILES ESSENTIELLES …… 18
I.6. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI …… 18
CHAPITRE II : LA PLANTE ÉTUDIÉE
II.1. DESCRIPTION …… 20
II.2. FAMILLE DES LAMIACEAE …… 20
II.2.1. Présentation botanique et géographique …… 20
II.2.2. Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel …… 20
II.2.3. Présentation du genre *Mentha* …… 21
II.2.4. Description botanique …… 21
II.2.5. Air et répartition …… 21
II.2.6. Usages traditionnels …… 21
II .2.7. Photochimie …… 22
II.2.8. Les huiles essentielles …… 22
II.2.9. Autres composants …… 23

II.1.10.Pharmacologie ……. 23
a. Activité antibactérienne …… 23
b. Activité antioxydant …… 23
c .Activité antifongique …… 23
d. Autres activités …… 23
II.3. NOMENCLATURE …… 24
II.3.1. Plante d'étude : *Mentha pulegium* …… 24
II.3.2. Classification …… 24
II.4. PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES …… 25
II.5. COMPOSITION CHIMIQUE …… 25
CHAPITRE III : MATÉRIEL ET MÉTHODE
III.1. EXTRACTION D'HUILE ESSENTIELLE …… 26
III.1.1. But …… 26
III.1.2. Matériels et Méthodes experimentales …… 26
a. Matière végétale …… 26
b. Matériels …… 27
III.1.3. Protocol expérimentale …… 27
III.1.4. Détermination des rendements en huiles essentielles …… 28
III.2. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES …… 29
III.2.1. Activité antioxydante …… 29
a.Teste de DPPH. …… 29
b. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH …… 29
c. Produits utilisées …… 30
d. Préparation de la solution DPPH. …… 30
e. Préparation des dilutions des extraits. …… 30
f. .Mode opératoire …… 31
III.2.2. Capacité antioxydant totale …… 33
III.2.3. Indice de réfraction …… 33
III.2.4. Miscibilité …… 34
III.2.5. Densité …… 35
CHAPITRE IV : Le Résultat et Discussion
VI. 1. RÉSULTAT D'EXTRACTION …… 36
VI.1.1. Masses d'huile essentielle …… 36
VI.1.2. Rendements en huiles essentielles …… 36
VI.2. RÉSULTATS DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES …… 37
IV.2.1. Évaluation de l'activité antioxydante …… 37
IV.2.2. Résultats du rendement (%) radicalaire …… 38
IV.2.3. Discussion des résultats d'activité antioxydante …… 39
Conclusion générale …… 42
Réference bibliographique …… 43

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION :

Dans les temps anciens, en l'absence de science et de développement, ainsi qu'en l'absence des produits pharmaceutiques et cosmétiques, la seule chose disponible était la richesse végétale de toutes sortes et variétés .C'était très naturel, exempt de toute impureté et interférence humaine. Les gens se sont intéressés aux plantes parce qu'elles contiennent un facteur de ses méfaits peut être inexistant. Cela est dû au développement de la société et de leur conscience, car la nature est un trésor méconnaissable et jusqu'au aujourd'hui nous ne connaissions pas ses secrets, car c'est une science large et aussi réduisez autant que possible l'utilisation de produits chimiques. [1]

A ce jour, â l'exemple de l'Algérie beaucoup de chercheurs ont encore recours â l'utilisation de la phytothérapie (médecine traditionnelle) pour se soigner car les composants prescrits figurent les huiles essentielles. [2]

Les plantes aromatiques dans lesquelles les huiles essentielles sont présentes, nous utilisons spécifiquement les feuilles, comme le romarin, la menthe, le basilic, et nos recherches incluent ce domaine. [3]

L'ensemble des travaux présentés dans ce mémoire sont réalisés au niveau du laboratoire de pédagogique et le laboratoire des ressources naturelles sahariennes(LRNS) au niveau de l'Université d'Adrar. Notre travail s'articule autour de deux parties :

- La première partie étant la partie théorique est partagée en deux chapitres :
  - Le premier chapitre regroupe les diffèrent définitions des huile essentielles, leurs propriétés et même leur toxicité. Des axes de recherche sur les différentes méthodes d'extraction ont été explorés ; quelques résultats obtenus et qui ont permis de mieux connaître leurs réactivités et ont laissé entrevoir quelques applications intéressantes.
  - Le deuxième chapitre regroupe les propriétés les plus importants de la plante *Mentha pulegium*, aussi l'importance de son utilisation dans notre vie quotidienne.
- La deuxième partie de notre travail scindée en deux chapitres, regroupent toutes les manipulations pratiques et les discussions des résultats obtenus.

- Le chapitre 3 est consacré sur la méthode d'extraction choisi (hydrodistillation clevenger), les différents protocoles d'activité antioxydante qui nous avons appliquée a notre huile essentielles des 3 échantillons d'un *Mentha pulegium*.
- Chapitre 4 traitera les résultats et les discutions des r résultats obtenus comme: le rendement ; l'activité antioxydante de DPPH ; la capacité antioxydante totale ; l'indice de réfraction ; la densité et la miscibilité.

En fin nous achèverons ce mémoire par une conclusion générale.

CHAPITRE I :

LES HUILES ESSENTIELS

I.1. HISTORIQUE DE L'USAGE DES PLANTS AROMATIQUES

Depuis longtemps, les hommes avaient cherché le moyen de séparer les éléments huileux des produits aromatiques. Ils réussirent en soumettant la matière à l'action de la chaleur. Les substances aromatiques étaient transformées en vapeur il suffisait de les recueillir et de les refroidir pour les obtenir sous forme liquide. [4]

Ce procédé qui se faisait à feu nu, prit le nom de distillation. Il était certainement connu des Chinois et des Indiens depuis 20 siècles avant Jésus-Christ. Les Egyptiens et les Arabes ont prévalues caractéristiques médicinales et aromatiques des plantes : la conservation des momies, l'aromatisation des bains, la désinfection des plaies avec les onguents, les parfums et la fabrication des boissons aromatiques. [5]

A l'apogée de leurs conquêtes en Afrique du Nord et en Espagne, les arabes le firent connaître aux Espagnols, lesquels à leur tour le propagèrent en Europe, à travers les possessions du Royaume d'Aragon, échelonnées tout le long des Côtes du Nord de la Méditerranée. [4]

I.2. L'APPARITION DE L'AROMATHÉRAPIE MODERNE

I.2.1. Aromathérapie

Ce terme provient étymologiquement du grec « arôma » = arôme, aromate; et de «therapeia » = soin, cure. Le terme aromathérapie a été créé par un français, René Maurice Gattefossé (1881-1950) signifiant «usage des arômes à des fins thérapeutiques » dont les fragrances des huiles essentielles. L'Aromathérapie est une branche de la Phytothérapie qui fait appel aux propriétés des HE extraites de plantes aromatiques (pharmacognosie). Elle est considérée comme une thérapie complémentaire ou encore comme une Médecine Alternative ou Complémentaire (MAC). [6]

I.2.2. Aromatologie

Conaissance des huiles essentielles et de leurs fragrances ainsi que leurs utilisations à des fins thérapeutiques et de bien-être). [7]

I.2.3. Aromatogramme

Méthode de mesure calquée sur celle de l'antibiogramme effectué avec des huiles essentielles (et non des antibiotiques); permet de tester et de mesurer précisément le pouvoir antibactérien d'une HE et la sensibilité particulière d'une bactérie vis-à-vis de cette HE. Pour ce faire, des disques buvards imprégnés d'HE sont placés au sein d'une culture bactérienne

(boite de pétri) ; après 24h dans une étuve à 37°C, la mesure des zones d'inhibition autour de certains de ces buvards imprégnés d'HE permet de déterminer si la bactérie est « sensible » - « intermédiaire » ou « résistante » à une HE donnée. L'utilisation thérapeutique de telle ou telle HE devient ainsi scientifique et particulièrement précise. Cette méthode initiée par les docteur Valnet et Girault dans les années 1970 reste aujourd'hui peu utilisée). [7]

I.2.4. Chemotype ou chimiotype

Appelé également race chimique, il permet de définir le molécules caractéristiques d'une HE, correspondant généralement aux constituants ou majoritaires. La précision du chemotype est capitale en thérapeutique: c'est la carte d'identité permettant d'identifier précisément (botaniquement et biochimiquement) la plante et l'organe producteu distillés. Le chemotype renseigne également sur les molécules biochimiquement actives et pouvant être utilisables en thérapeutique. Concernant la qualité médicale, le caractère indispensable associé à une notion scientifique repose sur le fait qu'une même plante aromatique botaniquement définie synthétisera une ESS dont on tirera une HE qui sera biochimiquement différente en fonction de l'organe distillé (feuille, fleur, tige, …)[5] . et du biotope dans lequel elle s'est développée. En effet, bien que certaines plantes soient morphologiquement et génétiquement identiques, leur phénotype chimique peut s'avérer variable. Nature du sol, altitude, ensoleillement, climat, sont autant d'éléments susceptibles d'influencer la composition d'une HE. Ainsi, pour le Thym (Thymus vulgaris), existe-t-il différents chemotypes pour son HE : on définit ainsi une HE de Thym à thymol ou à géraniol, ou à linalol ou encore à thujanol aux activités thérapeutiques comme aux toxicités différentes. Le chemotype se définit par des analyses chromatographiques de l'HE (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse) et permet de définir qualitativement et quantitativement la composition chimique exacte d'une HE en vue de son utilisation sécuritaire en thérapeutique. Cette notion de chemotype a été officialisée par l'Union Européenne depuis 2006. Selon les laboratoires spécialisés en aromathérapie, les abréviations «ct» et «sb»sont utilisées dans la littérature de façon indifférenciée pour désigner le chemotype d'une HE. [8]

I.2.5. Complexe aromatique

Réunion d'un certain nombre d'HE et d'HV en mélange dans le but de profiter des différentes vertus de chacun des ingrédients utilisés. En pratique, un mélange d'HE ne doit comporter que quelques HE (3 à 5 tout au plus) pour éviter des interactions et/ou

réarrangements moléculaires incontrôlables qui pourraient s'avérer agonistes, antagonistes ou nocifs in vitro ou in vivo. Ainsi, un complexe aromatique composé de plusieurs dizaines de molécules aromatiques serait sans aucun doute une aberration thérapeutique. [5]

I.2.6. Cultivar

Variétés cultivées de végétaux résultant d'une sélection, par mutation ou hybridation (naturelle ou provoquée), et cultivées pour des caractéristiques intéressantes qui leur sont propres. (ex: haute teneur en Essence (ESS), forte concentration en une molécule particulièrement bénéfique…). [9]

- **Huile Essentielle douce**

Expression utilisée pour une huile essentielle reconnue de faible ou de très faible toxicité (voire toxicité insignifiante) de par sa compositio biochimique parfaitement bien tolérée.

- **Huile Essentielle (HE)**

Produit obtenu à partir d'une distillation par entraînement à la vapeur d'ea d'une plante aromatique L'AFNOR a édité une norme pour l dénomination «HE ». [7]

- **Huile Végétale (HV)**

Substance grasse obtenue à partir de graines de plantes oléagineuses, par pression à froid. Les HV sont d'excellents excipients naturels utiles pour la dilution des HE en vue de leurs applications cutanées. La plupart d'entre elles possèdent en outre des propriétés intrinsèques (anti-inflammatoires, régénérantes, hydratantes.) susceptibles d'être mises à profit dans des soins thérapeutiques. [9]

- **Hydrolat Aromatique (HA)**

Eau ayant servi à la distillation de la plante et récupérée après distillation des plantes aromatiques ou non aromatiques. Il s'agit des vapeurs d'eau recondensées, séparées de l'HE à la sortie de l'alambic. L'HA est plus ou moins concentré en molécules thérapeutiques actives selon les plantes ; il ne contient seulement que certaines des molécules aromatiques (les plus hydrosolubles) de la plante, vaporisées au cours de la distillation. Les HA sont fragiles, leur conservation doit être de courte durée, dans un endroit frais et à l'abri de la lumière. Exemple : eau de Mélisse, eau de fleur d'Oranger, eau de Rose. [10]

- **Phytothérapie**

Étymologiquement, cette thérapie « soigne avec les plantes ». La phytothérapie fait appel aux propriétés thérapeutiques de certaines plantes médicinales, généralement utilisées sous forme d'extraits (infusions, extraits, teintures, …) et non pas de substance naturelle purifiée.

Plante aromatique : végétal contenant des molécules volatiles odorantes dans au moins l'un de ses organes producteurs (feuille, fruit, fleur, graine, écorce, racine). Dès lors qu'il en contient suffisamment, il peut être distillé et l'on peut ainsi en extraire de l'HE. [11]

- **Synergie**

Phénomène par lequel plusieurs HE mises en mélange agissent ensemble pour créer un effet globa plus favorable que si les HE étaient utilisées séparément. De façon générale, dit qu'il y a synergie positive quand « le résultat commun, (l'efficacité on thérapeutique) est meilleur que la somme attendue des résultats individuels des parties ».[12]

I.3. DÉFINITION D'UNE HUILE ESSENTIELLE

Définie par la Pharmacopée européenne, une huile essentielle est un «produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie :

Soit par entrainement à la vapeur,

Soit par distillation sèche

Soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage.

L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition». [4]

Selon la monographie de la Pharmacopée européenne, la matière première végétale peut être fraîche, flétrie, sèche, entière, contuses ou pulvérisée, à l'exception des fruits du genre Citrus qui sont toujours traités à l'état frais. Dans le cas du genre Citrus, dont les fruits sont traités par expression à froid, l'AFNOR (Association Française de Normalisation) ne parle pas d'huile essentielle mais d'essence. [5]

Toujours selon la Pharmacopée européenne, les huiles essentielles sont parfois modifiées et pourront être déterpénées, désesquiterpénées, rectifiées ou encore privées de « x » [6] :

• Un huile essentielle déterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono terpéniques.

• Une huile essentielle déterpénée et désesquiterpénée est une huile essentielle privée, partiellement ou totalement, des hydrocarbures mono- et ses qui terpéniques.

• Une huile essentielle rectifiée est une huile essentielle qui a subi une distillation fractionnée dans le but de supprimer certains constituants ou d'en modifier la teneur.

• Une huile essentielle privée de « x » est une huile essentielle qui a subi une séparation partielle ou complète d'un ou plusieurs constituants.

Une huile essentielle est donc, selon la pharmacopée européenne, le produit de la distillation de l'essence végétale (sécrétion naturelle synthétisée par les plantes aromatiques et excrétée dans des organes spécifiques). L'art de la distillation consiste à la récolter sans l'altérer. Cependant, au cours de l'extraction, un certain nombre de ses constituants va subir des transformations (réarrangement moléculaire, hydrolyse, etc...). De ce fait, il convient de bien différencier l'essence que l'on extrait et l'huile essentielle récupéré. [4,5]

I.4. METHODES D'EXTRACTION

Une fois la matière première végétale identifiée, il convient d'utiliser une méthode D'extraction adaptée pour son obtention. La neuvièm édition de la Pharmacopée européenne indique que les huiles essentielles sont obtenues par :

- Hydro distillation
- Distillation sèche
- Procédé mécanique sans chauffage

Il existe cependant d'autres méthodes destinées à des utilisations dans d'autres domaines que la santé De ce fait, à partir d'une même matière première végétale, une multitude d'extraits différents peuvent être réalisés, parmi lesquels on retrouve les huiles essentielles. Le schéma suivant (Figure1) montre les principales possibilités d'extractions des composés aromatiques.

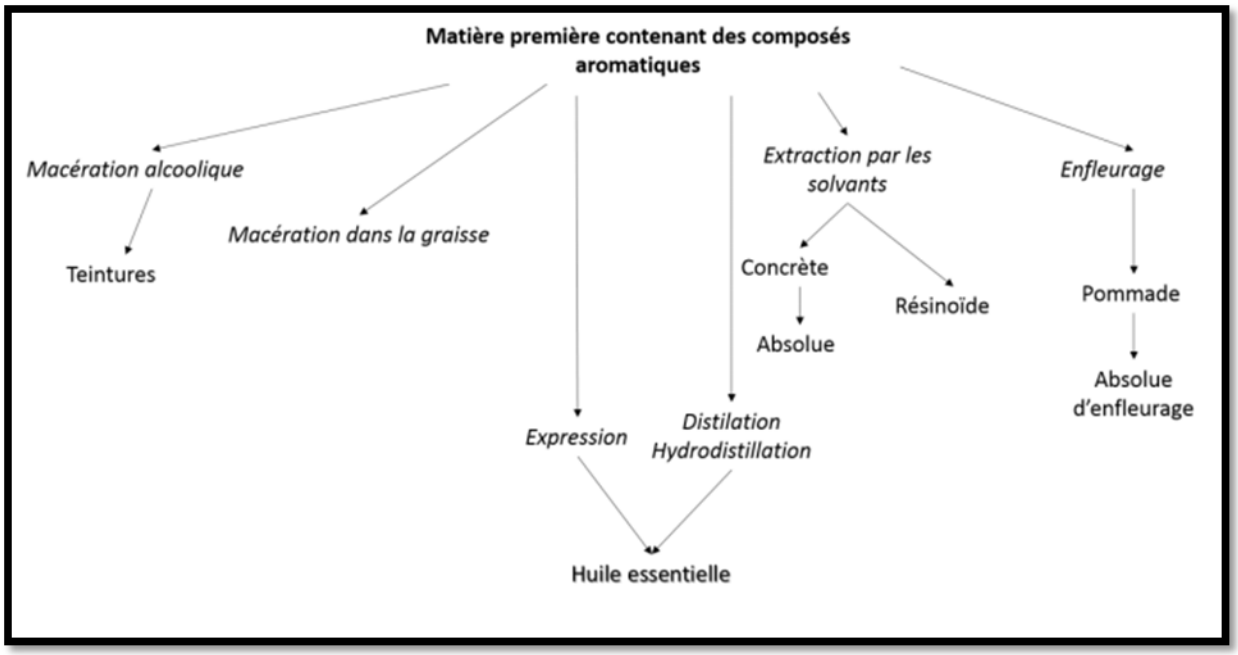

Figure1.Différents extraits aromatiques obtenus à partir de matière végétale.

I.4.1. Hydrodistillation

La distillation est un processus ancien puisque les premières traces connues remonteraient à 5000 ans dans la vallée de l'Indus [3]. Cette technique d'extraction est connue depuis l'antiquité, a été transmise par les Arabes et a été perfectionnée par les industriels de Grasse (Alpes-Maritimes). Cette méthode, une des plus anciennes mais aussi une des plus simples, est depuis peu délaissée au profit de nouveaux procédés de distillation pour des raisons de qualité et de coût de production [4]. Aujourd'hui, c'est une méthod normée, que ce soit pour l'extraction des huiles essentielles ou pour le contrôle de leur qualité. [13]

Le principe général (représenté dans la figure) de l'hydrodistillation est le suivant : On chauffe dans un alambic jusqu'à ébullition une suspension d'une matière première végétale dans l'eau de sorte que la vapeur d'eau entraine les substances volatiles de la plante. Cette vapeur est récupérée et condensée. L'huile essentielle constituée de ces différentes substances volatiles se sépare par gravité de l'eau à laquelle elle n'est pas miscible.

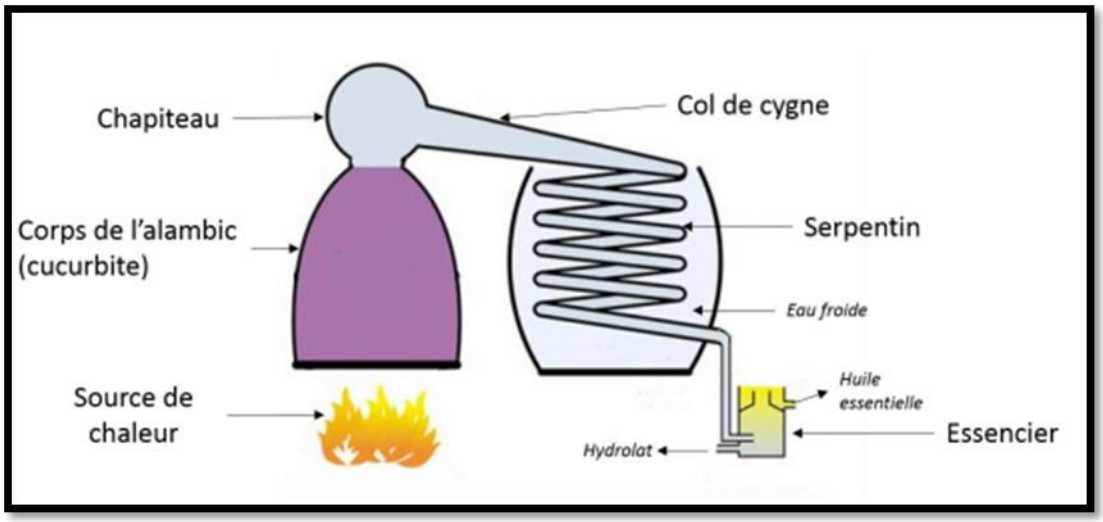

Figure2. Schéma d'un hydrodistillation par un alambic

La chaleur qui s'applique sur la matière première végétale permet l'éclatement des cellules et la libération des molécules contenues. Il se forme un mélange azéotrope comprenant l'eau et les molécules volatiles dont la température d'ébullition est proche des 100°C alors que la température d'ébullition des molécules aromatiques seules est souvent très supérieure. [14]

L'hydrodistillation permet donc de limiter le chauffage à appliquer sur la matière première.

La distillation peut se faire avec ou sans système de recyclage de la phase aqueuse (cohobage). Celle-ci est alors récupérée après séparation de l'huile essentielle et directement réintroduite dans le mélange eau/matière première. Ce système est intéressant puisqu'il permet de s'assurer qu'il reste toujours de l'eau dans la chaudière, ce qui permet de limiter la montée en température synonyme de dégradation rapide de la matière première végétale. Un dispositif d'agitation peut également être ajouté pour éviter l'accumulation de matière solide au fond de la cuve [15].

La durée d'extraction est variable d'une plante à une autre et peut atteindre plusieurs heures, elle a une influence sur le rendement mais également la composition finale de l'huile essentielle. En effet, les essences riches en composés lourds nécessitent un temps de chauffage plus long pour permettre une extraction satisfaisante.

Le travail peut se faire dans un circuit à pression réduite, notamment pour les molécules difficiles à entrainer. La température d'ébullition sera alors considérablement diminuée et les dégradations liées à la température diminuées d'autant. Cependant, le coût d'un tel équipement et de son fonctionnement limitent son utilisation [13]. Cette extraction peut être assistée par différentes technologies comme les micro-ondes ou les ultrasons, permettant de réduire le temps d'extraction tout en améliorant le rendement. [14].

Ce procédé d'extraction présente plusieurs avantages. Outre sa relative simplicité de mise en œuvre, c'est son faible coût qui en fait une méthode d'intérêt. De plus, la matière végétale étant en suspension dans l'eau, on peut lui appliquer un brassage qui assure la pénétration de l'eau en son cœur, là où la vapeur d'eau utilisée dans d'autres méthodes, ne peut pénétrer. C'est par exemple le cas pour les pétales de roses qui ont tendances à s'agglomérer, ce qui rend l'extraction de cette huile essentielle insatisfaisante par entraînement à la vapeur. Cependant, un certain nombre d'inconvénients ont fait que cette méthode est peu à peu remplacée par d'autres. Cette méthode ne s'applique qu'à une plus petite échelle que d'autres techniques. C'est également un procédé beaucoup plus lent que l'entrainement à la vapeur et qui nécessite de ce fait un apport d'énergie plus important, ce qui relativise le faible coût de l'installation. Dans cette technique, la matière première baigne dans l'eau, à température élevée et pendant plusieurs heures, ce qui facilite la survenue d'un certain nombre de transformations au sein de l'essence. Les esters sont en partie hydrolysés, les hydrocarbures mono terpéniques acycliques et les aldéhydes ont tendance à polymériser. Certains composés oxygénés tels que les phénols se dissolvent en partie dans l'eau contenue dans l'alambic et ne sont donc pas extraits. [15,16]

I.4.2. Entraînement à la vapeur

L'entrainement à la vapeur d'eau est une variante plus récente de distillation dans laquelle il n'y a pas de contact direct entre la matière végétale et l'eau. Ici, de la vapeur d'eau est produite dans une chaudière séparée, puis injectée à la base de l'alambic dans lequel se trouve la plante. La vapeur remonte dans l'alambic et traverse la plante. De la même façon que dans l'hydrodistillation, on assiste à un éclatement des cellules et à la formation d'un mélange azéotrope, récupéré en haut de la cuve et condensé [14] (Figure 3). L'un des principaux intérêts de cette méthode par rapport à l'hydrodistillation est la préservation de la qualité de l'essence. En effet, dans le cas présent, la plante ne macère pas dans l'eau, ce qui limite les phénomènes d'hydrolyse mais également de solubilisation de certains composés hydrosolubles (comme les phénols) qui sont donc mieux extraits. Le risque de dégradation par la chaleur est également mieux maitrisé puisque le chauffage ne se fait pas directement sur la cuve contenant la matière première égétale. La génération de la vapeur dans une chaudière externe permet d'en contrôler la quantité, la pression ou encore la température à laquelle se fait l'extraction; elle permet également de réduire le temps d'extraction et l'apport énergétique nécessaire. Enfin, l'entrainement à la vapeur permet généralement des extractions à plus grande échelle. [15]

Cependant, cette méthode trouve sa limite dans le coût des installations nécessaires à sa mise en œuvre, bien plus important que pour l'hydrodistillation. Cela pose un problème de rentabilité pour les huiles essentielles présentes en grande quantité et à faible prix sur le marché. Un problème d'accessibilité du matériel se présente également dans les zones pauvres ou particulièrement reculées. [16]

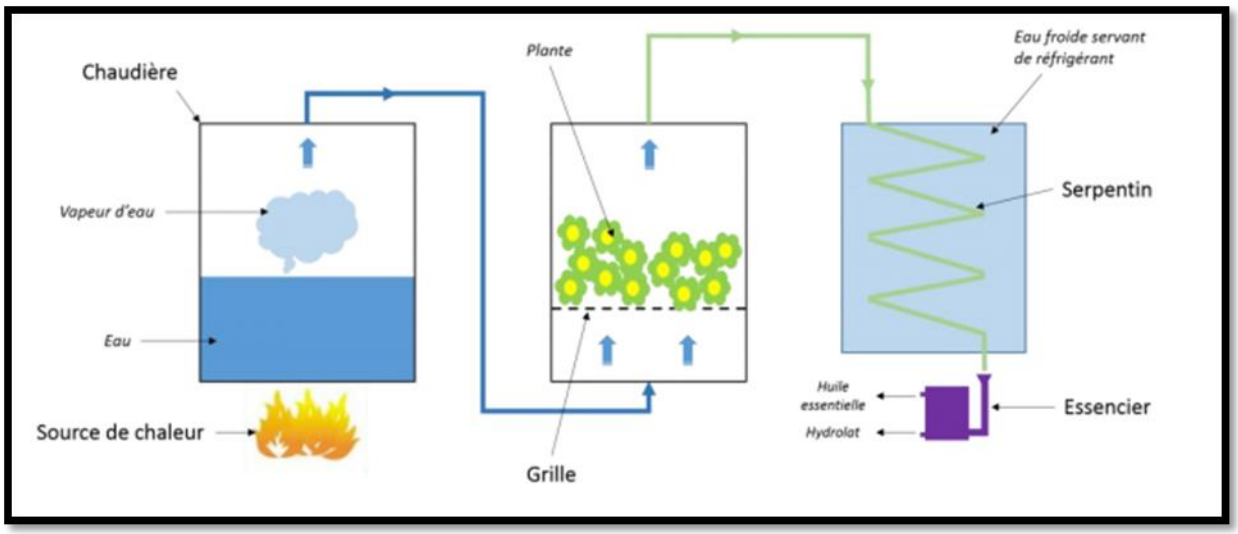

Figure 3 : Schéma d'une installation d'entrainement à la vapeur

Il existe une variante à cette méthode appelée hydrodiffusion ou percolation. Dans ce cas, le flux de vapeur n'est plus orienté de bas en haut mais traverse la plante à partir du haut de la cuve et est récupérée à sa base. C'est une méthode encore plus économe en temps et en énergie car elle consomme moins de vapeur. Elle est cependant plus chère à employer et n'est utilisée que pour les matières premières fragiles et dont les huiles essentielles ont un prix plus élevé. De par le procédé d'extraction, il est possible de retrouver dans l'huile essentielle des composés non volatils, qui n'auraient pas été extraits par une autre méthode, c'est pourquoi il est préférable de parler ici « d'essence de percolation » et non d'huile essentielle [17].

I.4.3. Vapo-hydrodistillation

Il s'agit d'une variante à mi-chemin entre l'hydrodistillation et l'entrainement à la vapeur dans laquelle la matière végétale et l'eau se trouve dans la même enceinte mais ne sont pas en contact. L'eau est portée à ébullition par le chauffage de la cuve, se transforme en vapeur et passe au travers de la plante, posée sur une grille au-dessus de l'eau (Figure 8).

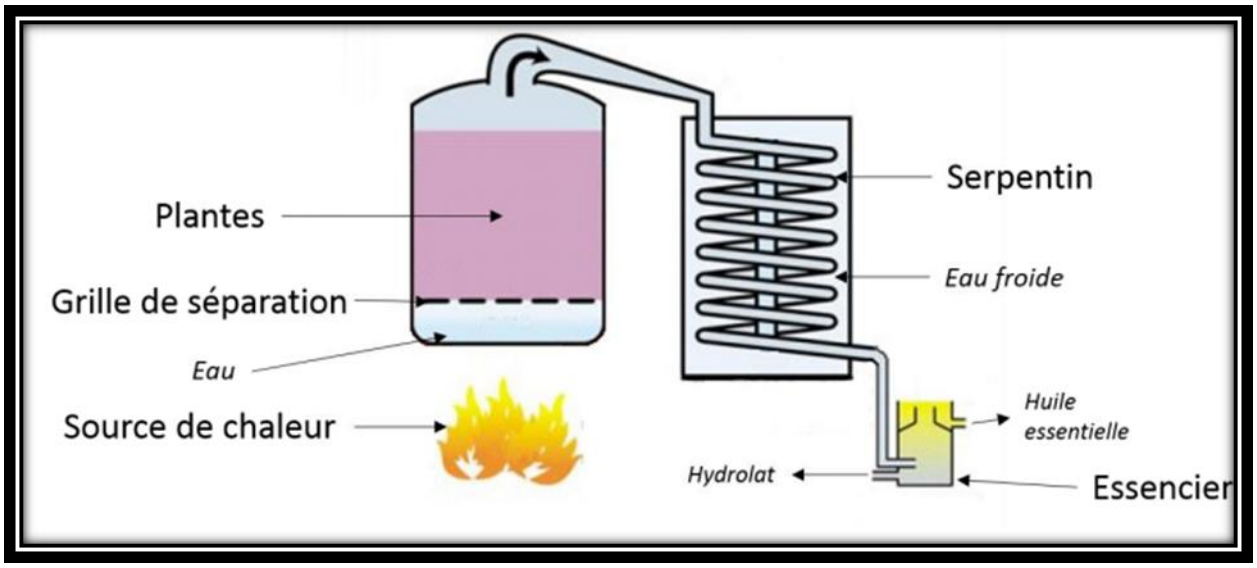

Figure 4. Schéma d'une installation de vapo-hydrodistillation

Le tableau présente un comparatif des avantages et inconvénients des trois méthodes présentées précédemment.

Tableau01. Intérêts et inconvénients des différents procédés de distillation

	Hydrodistillation	**Vapohydrodistillation**	**Entrainement à la vapeur**
Type d'alambic	Simple, de faible coût, transportable et facilement installable dans les régions de production		De grande dimension pour augmenter la cadence de distillation
Type de matériel végétal	Fleurs principalement, Inadapté si présence de composés saponifiables, hydrosoluble ou à température d'ébullition élevé	Plantes entières et Feuillages	Tous sauf matériel finement broyé. Adapté pour les composés à point d'ébullition élevé
Conditions de diffion Température dans l'alambic	Bonnes, surtout si le matériel végétal est totalement immergé et mobile dans l'eau	Bonnes, si la vapeur circule de manière homogène dans la matière végétale	Bonnes, si la vapeur est légèrement mouillée et si elle diffuse de manière homogène dans le matériel végétal
Température dans l'alambic	Proche de 100°C, risqued'endommagement du matériel végétal par contact direct avec la cuve	Autour de 100°C	Modulable, peut dépasser 100°C
Vitesse de distillation	Relativement faible	Assez bonne	Elevée
Hydrolyse	Vitesse d'hydrolyse d'esters élevée	Moindre problème (contact plante/eau limité)	Faible en général
Rendement	Souvent relativement faible	Bon en l'absence de mouillabilité importante de la plante	Bon si l'extraction est correctement correctement conduite
Qualité de l'huil	Dépend des conditio conditions	Toujours bonne	Bonne si l'extraction est correctement conduit

I.4.4. Distillation sèche

La distillation sèche est une méthode d'extractio des huiles essentielles reconnue par la pharmacopée européenne mais on ne retrouve dans la pratique que peu de documents s'y rapportant. [15]

Cette technique, très peu utilisée, consiste en un chauffage doux de la matière première, sans eau ni solvant organique. Les substances volatiles sont ensuite condensées et récupérées. La température est ici inférieure à 100°C, ce qui limite une nouvelle fois les phénomènes de dénaturation liés au chauffage. L'absence d'eau permet également de préserver les substances volatiles de l'hydrolyse.

On obtient par ce procédé une huile essentielle de grande qualité, assez fidèle à l'essence présente dans la plante, mais avec un rendement très faible. C'est donc une méthode qui convient aux matières première particulièrement fragiles. [16,17]

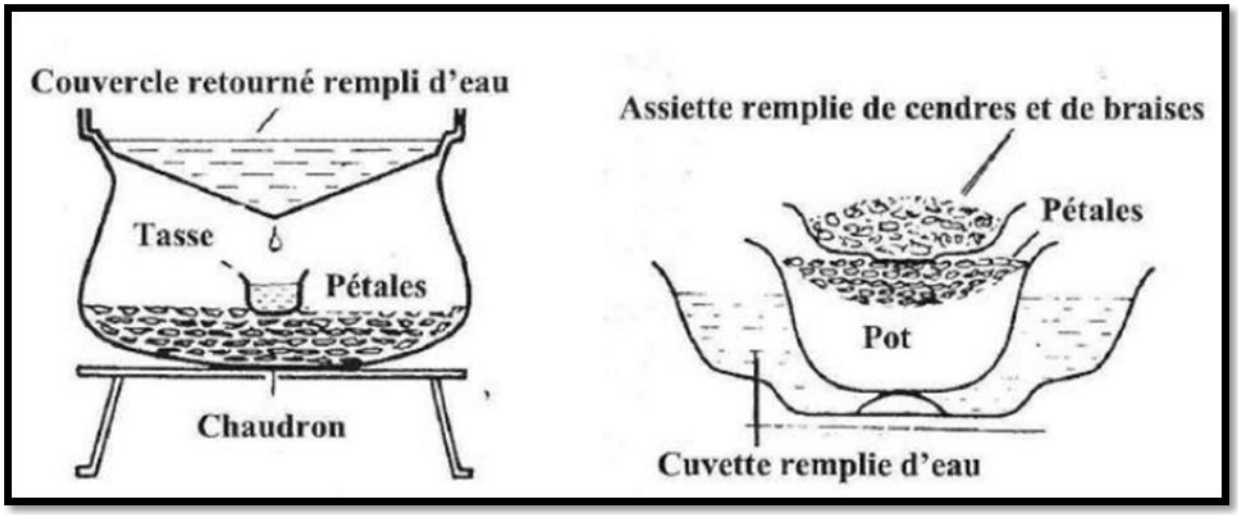

Figure5 : Schéma d'une installation de distillation sèche

I.4.5. Expression à froid

L'expression à froid correspond le troisième procédé d'extraction décrit par la pharmacopée européenne comme un « procédé mécanique sans chauffage ». Elle ne concerne que la production des huiles essentielles à partir de fruits frais du genre Citrus. C'est la méthode de production la plus simple. [18]

On regroupe sous le terme « expression à froid » tout processus permettant par des moyens mécaniques et sans chauffage d'extraire les huiles essentielles des fruits des agrumes. En règle générale, c'est l'huile essentielle présente dans les glandes oléifères de l'épicarpe que l'on cherche à récupérer. Les moyens utilisés vont de la simple abrasion du zeste du fruit au broyage de la peau dans son intégralité. Cette méthode étant la plus respectueuse du

produit de départ, le terme « essence » convient parfaitement pour désigner les huiles essentielles obtenues par ce procédé. En effet, aucune modification n'a lieu au court de l'extraction. [18]

Les méthodes de productions ayant considérablement évoluées, les essences de certains agrumes sont peu à peu devenues des sous-produits de la production de jus de fruits. S'il est de ce fait nécessaire de porter une attention particulière à la qualité des huiles essentielles obtenues, cela permet également d'en baisser considérablement le coût

Ce procédé d'extraction s'est imposé car il est le seul à permettre l'obtention d'une huile essentielle de qualité satisfaisante. En effet, les procédés faisant appel à un chauffage et/ou à l'eau, comme la distillation, entrainent de trop grandes modifications de composition et de caractères organoleptiques de l'essence. Par exemple, certains aldéhydes aliphatiques présents dans le genre Citrus sont thermosensibles et donnent après distillation des composés malodorants qui rendent l'huile essentielle difficilement exploitable .L'expression à froid permet au contraire de conserver dans l'essence l'odeur caractéristique du fruit[16].

Les méthodes mécaniques permettent également de conserver les molécules apolaires et non volatiles, habituellement absentes des huiles essentielles produites par distillation (flavonoïdes, stéroïdes, acides gras, fur coumarines substituées, etc…). Certaines d'entre elles sont intéressantes comme les tocophérols, antioxydants naturel qui favoriseron la conservation de l'essence [19]. En entrainant les molécules apolaires non volatiles, il est malheureusement possible d'extraire également différents produits chimiques utilisés au cours de la culture ou pour la conservation des fruits [19].

I.4.6. Enfleurage et extraction par les graisses chaudes

L'enfleurage est une ancienne technique d'extraction des parfums des fleurs qui a principalement été utilisée dans la région de Grasse (Alpes-Maritimes) jusque dans les années 1930. Il s'agit d'une extraction à froid par la graisse. Celle-ci est étalée sur une surface plate (tamis ou plateau), les fleurs sont déposées une à une et à la main à sa surface. Par son grand pouvoir d'absorption, la graisse fixe le parfum. On pratique des remplacements successifs des fleurs jusqu'à saturation de la graisse [15]. La matière grasse est ensuite récupérée pour former une « pommade ». Cette pommade subit des traitements successifs à l'alcool qui permettent un passage progressif des substances odorantes de la graisse vers l'alcool, qui sera par la suite éliminé pour donner l'absolu d'enfleurage. L'enfleurage n'est donc pas une technique d'obtention des huiles essentielles, mais de bases parfumées utilisées dans le domaine de la parfumerie. [20]

Cette technique est particulièrement intéressante pour les fleurs qui continuent à dégager leur parfum après la cueillette, comme par exemple la fleur de jasmin (Jasminum grandiflorumL.). Dans le cas de cette espèce, les fleurs sont remplacées toutes les 24h pendant environ 70 jours [15].L'enfleurage est une méthode pour laquelle le travail manuel nécessite une main-d'œuvre expérimentée et qualifiée, la rendant particulièrement longue et onéreuse. [20]

L'extraction par les graisses chaudes suit le même principe : l'extraction des substances odorantes des fleurs par de la graisse, réutilisée jusqu'à saturation. Dans le cas de l'extraction à chaude la matière végétale et la graisse sont chauffées à une température de quelques dizaines de degrés, pendant une à deux heures. Après filtration, la graisse est de nouveau chauffée avec des fleurs fraiches jusqu'à saturation. Elle est ensuite traitée comme dans l'enfleurage mais donnera cette fois-ci l'absolue de macération [21].

L'intérêt de la méthode réside dans la diminution du temps de contact fleur/graisse et le moindre besoin en main-d'œuvre.

I.4.7. Extraction par les solvants

L'extraction par les solvants est un procédé inspiré de l'enfleurage qui utilise des solvants non aqueux. Il peut s'agir de l'hexane, d'éthers de pétrole, d'huiles, de gaz. Le solvant idéal devant répondre aux critères suivants [21]:

- Être sélectif : extraire les molécules aromatiques mais pas les molécules indésirables comme les pigments.
- Avoir une température d'ébullition basse, pour permettre une élimination simple.
- Être chimiquement inerte vis-à-vis des substances à extraire.
- Ne pas être miscible à l'eau, qui rendrait la purification de l'extrait plus délicate.
- Être peu coûteux.
- Ne pas présenter de contre-indication dans les domaines d'application de l'extrait obtenu.
- Ne pas être inflammable.
- Présenter la plus faible toxicité possible.

Aucun solvant ne remplit la totalité de ces conditions, mais le plus utilisé est l'hexane.

L'intérêt de ces solvants est leur pouvoir d'extraction des parfums très supérieur à celui de l'eau. Cependant, ils n'entrainent pas seulement les composés volatils. Le point négatif des solvants organiques est leur toxicité. Cela réduit les champs d'application des extraits obtenus (appelés « concrètes »), notamment dans les domaines pharmaceutiques et agroalimentaires. [22]

I.4.8. Extraction par le CO_2 supercritique

L'extraction par le CO_2 supercritique est un cas particulier d'utilisation d'un solvant, apparue dans les années 1980. La technique met à profit une propriété originale du CO_2 qui, au-delà du point critique (pression de 73,8 bars et température de 31,1°C), se trouve dans un état intermédiaire entre le liquide et le gaz lui conférant un important pouvoir d'extraction des molécules aromatiques.

Le principe général de la méthode (représenté de manière schématique dans la figure) est le suivant. Le CO_2, porté aux conditions de température et de pression souhaitées, chemine au travers de la matière première végétale dont elle tire et volatilise les molécules aromatiques. Le mélange passe ensuite dans un séparateur, ou le CO_2 est détendu et se vaporise. Il est soit éliminé, soit recyclé. L'extrait se condense et est récupéré [6].

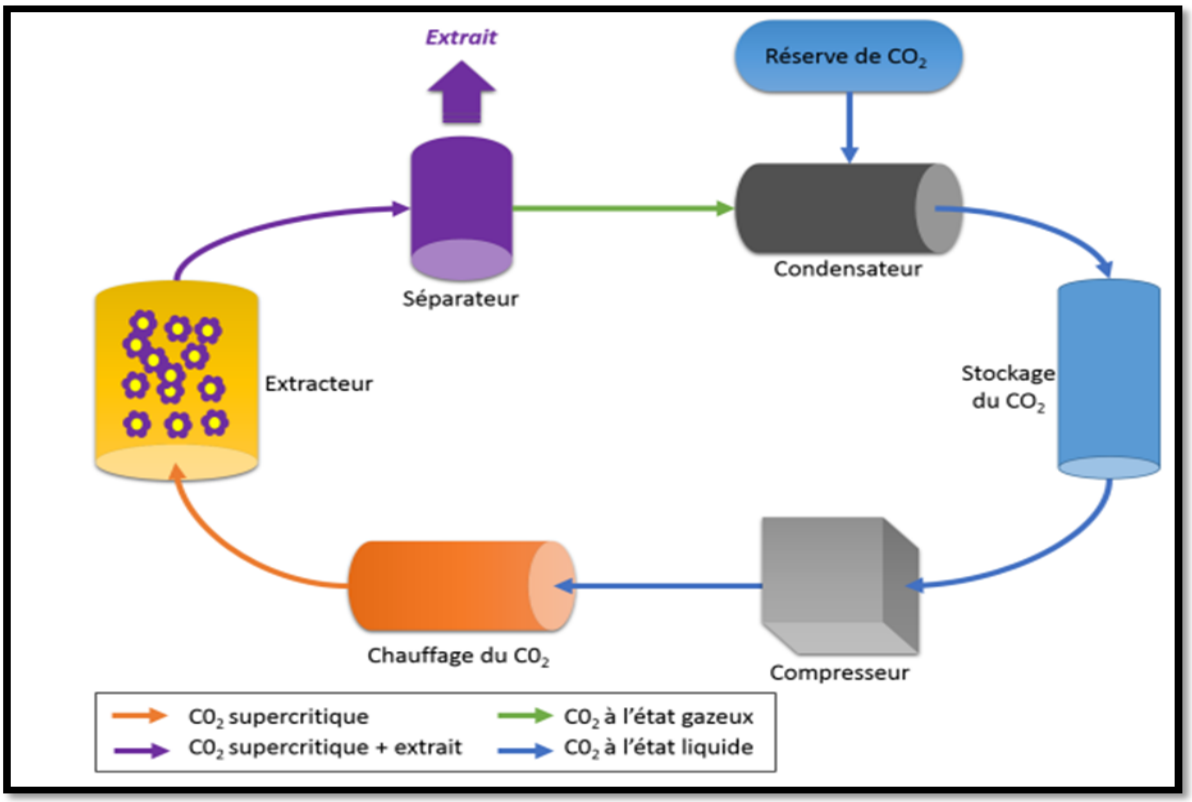

Figure 6. Schéma simplifié d'un extracteur au CO_2 supercritique

C'est une technique en plein développement et promise à un bel avenir en raison de ses nombreux avantages. En effet, le CO_2 répond à de nombreux critères évoqués plus haut relatifs au solvant « idéal ». Il est naturel, chimiquement inerte, ininflammable, peu toxique, sélectif, relativement peu coûteux car abondant et son élimination se fait facilement sans le

moindre résidu. De plus, l'extraction se faisant sans eau et à une température peu élevée, il n'y a pas de transformations chimiques, ce qui rend la méthode encore plus attractive.
Gaspar et Leeke ont montré que pour certaines plantes au moins, un prétraitement (par exemple un broyage ou une division de la plante) de la matière végétale était nécessaire afin de garantir un rendement proche de celui de l'hydrodistillation [23].
La composition des extraits CO_2 diffère de celle des huiles essentielles par la concentration des composés principaux, mais également par le nombre de composés que l'on y trouve. En effet, le CO_2 supercritique permet d'extraire un nombre plus important de molécules . On sait également que le CO_2 favorise l'extraction des composés les plus volatiles en comparaison à l'hydrodistillation [24].

L'extraction par le CO_2 en phase supercritique permet donc d'obtenir un produit de qualité intéressante pouvant être proche de l'huile essentielle et surtout de l'essence d'origine. Cette méthode trouve déjà des applications dans de nombreux domaines.

I.4.9. Extractions assistées par les micro-ondes

L'utilisation des micro-ondes pour l'obtention des huiles essentielles est une méthode décrite au début des années 1990. Il s'agissait alors d'une hydrodistillation par les micro-ondes, sous vide. La matière végétale est placée dans une enceinte close et chauffée par les micro -ondes. Les molécules volatiles sont entrainées par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau contenue dans le végétal. La vapeur est ensuite récupérée et traitée de la même façon que dans les méthodes traditionnelles. Le temps d'extraction, et par extension l'énergie nécessaire, a ainsi été diminué d'un facteur 5 à 10 selon les plantes ; Il faut par exemple quinze minutes pour traiter 2kg de menthe poivrée (*Mentha x piperita L.)* avec un rendement de 1%, contre deux heures pour un même résultat par hydro distillation. [19]
Aujourd'hui,la tendance est plus à l'hybridation de techniques. On parle de méthodes d'extractions assistées par micro-ondes. [25]

Dans le cas de l'hydrodistillation, c'est le ballon où est chauffé le mélange d'eau et de matière végétale qui se trouve dans l'enceinte de l'appareil micro-onde. On observe alors une importante réduction du temps d'extraction avec une légère augmentation du rendement d'extraction, sans différence significative dans la composition chimique de l'huile essentielle. La réduction du temps de contact avec l'eau et la réduction de la température de chauffage permettent de mieux préserver les composés oxygénés de l'essence. [25, 26]

I.5. TOXICITÉ DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles gagnent du terrain. Le public est en demande de produits naturels pour se soigner « autrement ». Bien qu'en vente libre, y compris en dehors du circuit officinal, les huiles essentielles ne sont pas des produits anodins et présentent certains risques de toxicité. Dans son exercice quotidien, le pharmacien doit s'assurer du bon usage des huiles essentielles par ses patients et du respect des précautions d'emploi et éventuelles contre-indications.Rappelons que les huiles essentielles sont susceptibles d'entrainer plusieurs types de toxicité :

- **Hépatotoxicité**
- **Dermotoxicité** (irritations, brûlures, hypersensibilité, phototoxicité) et irritation des muqueuses exposées
- **Neurotoxicité** (dépression ou excitation du système nerveux central, effet stupéfiant, convulsions)
- **Néphrotoxicité**
- **Effets tératogènes et abortives**
- **Propriétés cardiogéniques**
- **Hypersensibilité**

Les intoxications aiguës graves restent relativement rares et sont souvent liées à l'ingestion accidentelle d'huiles essentielles par de jeunes enfants. [27]

La principale toxicité chronique observée en aromathérapie est liée à l'utilisation prolongée d'huiles essentielles phénoliques, dangereuses pour les hépatocytes sur le long terme.

L'hypersensibilité à un ou plusieurs composés volatils se rencontre chez des personnes régulièrement exposées dans le cadre professionnel. [27]

Certaines huiles essentielles, sensibles par leur toxicité ou les usages détournés possibles, sont intégrées au monopole pharmaceutique.

I.6. PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

Pour une utilisation sans risque des huiles essentielles, des précautions d'emploi sont à respecter et certains gestes sont à proscrire.

a. A respecter

•Utiliser des huiles essentielles 100% pures et naturelles, identifiées et conservées dans de bonnes conditions.

•Bien se laver les mains après avoir touché une huile essentielle ou une préparation en contenant pour éviter tout contact accidentel avec l'œil

•Chez les personnes allergiques faire au préalable un test de tolérance cutanée pour les huiles essentielles à appliquer sur la peau. Il consiste à étaler une à deux gouttes d'huile essentielle dans le pli du coude. L'apparition d'une irritation au bout de 15 à 20 minutes contre-indique l'emploi de cette huile essentielle

• Garder les flacons d'huiles essentielles bien fermés et hors de portée des enfants

• Respecter strictement les voies d'administration, les doses prescrites et les contre-indications propres à certaines huiles essentielles

b. A proscrire

• Injecter une huile essentielle par voie parentérale : IM ou IV

•Appliquer une huile essentielle même diluée dans les yeux

• Appliquer des huiles essentielles pures dans le nez, le conduit auditif et sur les zones ano-génitales. Sur ces parties, elles doivent être diluées à une concentration maximale de 10%.

• Utiliser les huiles essentielles en inhalation chez les patients asthmatiques ou allergiques et chez les enfants de moins de 12 ans sauf exception.

•Avaler les huiles essentielles pures : risque de brûlure des muqueuses oropharyngées

• Appliquer chez des enfants de moins de 6 ans de l'huile essentielle de Menthe poivrée sur la peau: risque de spasme laryngé et chez des adultes sur une zone corporelle trop étendue : sensation glacée avec vasoconstriction

c. Avis médical impératif

•Femme enceinte ou allaitante

• Enfant de moins de 3 ans

•Enfant de moins de 6 ans pour la voie orale

•En cas d'allergie

• En cas d'antécédent d'épilepsie.

CHAPITRE II :

LES PLANTES ÉTUDIÉS

II.1. DESCRIPTION :

La plante d'étude : *Mentha pulegium*

Figure7.*Mentha pulegium L.*

II.2. FAMILLE DES LAMIACEAE

II.2.1. Présentation botanique et géographique

La famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiées (Labiatae) est une importante famille de plantes dicotylédones, qui comprend environ 4000 espèces et près de 210 genres répandus dans le monde entier, mais surtout dans la région méditerranéenne [16].C'est une famille très importante dans la flore d'Algérie, ces espèces sont des plantes herbacées ou arbrisseaux à nombreuses glandes aromatiques; tiges quadrangulaires. Feuil es opposées, en général simples. Fleurs irrégulières (zygomorphes), en bouquets axillaires étagés, formant souvent des verticilles autour de la tige ; calice à 5 dents, parfois bilabié ; corolle bilabiée, sauf chez Ajuga et Teucrium, la lèvre inférieur trilobée, la supérieure bilobée. Etamines, 4 (2 chez Salvia). Fruit, 4 akènes insérés à la base du calice persistant. [28,29]

II.2.2.Intérêt économique, pharmacologique et nutritionnel

Cette famille est une importante source d'huiles essentielles, d'infusion et antibiotiques pour l'aromathérapie, la parfumerie et l'industrie des cosmétiques. On y

rencontre beaucoup d'espèces cultivées comme plantes condimentaires (sauge, thym, basilic, menthe, etc…). On y trouve aussi des plantes ornementales (sauge, lavande, etc...). [30]

II.2.3. Présentation du genre *Mentha*

Mentha est un genre de la famille des labiées incluant 20 espèces répandues dans le monde entier.Ces plantes portent le nom d'une nymphe grecque métamorphosée en végétal [31,32]. Les menthes se reconnaissent, en plus de leur odeur spéciale, à leurs fleurs très petites, à leurs corolles presque régulières à 4 lobes presque égaux et à 4 étamines également presque égales. [33]

II.2.4. Description botanique

Mentha pulegium L est une herbe vivace très odorantes. Inflorescence formée de nombreux ver ticillastres denses, feuillés, distants. C'est une plante glabre à Calice presque bilabié. Plante de 10-30 cm très fréquente dans les lieux inondés en hiver et assez commune surtout dans le Tell .[34]

Les tiges quadrangulaires, rameuses, velue, grisâtre ou glabrescente feuilles petites courtement pétiolées, oblongues, longues de 15 à 25 mm, crénelées sur les bords. Fleurs pédonculées, rosées ou liliacées, en verticilles nombreux tous axillaires écartés, multiflores, très compacts; calice velu, tubuleux à gorge fermée par des poils connivents, su bilabié à 5 dents inégales, ciliées, les deux inférieures plus étroites, corolle non gibbeuse à la gorge carpelles ovoïdes, lisses. [35]

II.2.5. Air et répartition

La plante est très commune jusqu'à 1800m d'altitude. Dans les zones humides, près des routes, et en abondance dans les montagnes herbagées. Elle est très répandue dans l'aire méditerranéenne, l'Europe, l'Asie, l'Amérique et le Nord de l'Afrique (du Maroc à l'Égypte). [35,36]

II.2.6. Usages traditionnels

La partie aérienne florissante de pouliot est traditionnellement utilisée pour son effet antiseptique, et aussi comme anti flatulent, carminatif, expectorant, diurétique, pour le traitement du rhume, sinusite, cholera, intoxications alimentaire, bronchite et tuberculose, ...etc [37]. Elle fournit une huile essentielle connue sous le nom de pennyroyal. Cette dernière

est utilisée outre atlantique comme aromatisant (fabrication des parfums et du savon) ainsi comme répulsif d'insectes [36]. Elle a aussi une utilisation ancestrale pour aromatiser les sauces, les desserts et les boissons, elle est parfois cultivée comme plante condimentaire. [23]

Quelques préparations thérapeutiques de la plante sont présentées dans le tableau2.

Tableau 2. Préparations thérapeutiques de la *Mentha pulegium*

Partie utilisée et Préparation	Effets thérapeutiques	Référence
Partie aérienne **Infusion :** cuillère à soupe par tasse pendant 10 min. **Inhalation** **Décoction :** dans le lait ou du thé.	Cas de refroidissement, de rhume, de bronchite, de toux et de douleurs abdominales	[37]
Feuilles fraiches en Cataplasme	Arrêt de la sécrétion lactée	[32]
L'huile essentielle : A forte dose	Un effet abortif	[37]

II.2.7. Photochimie

Les huiles essentielles, les polyphénols et les terpène sont considérés comme les principaux composés chimiques responsables de l'activité pharmacologique des espèces appartenant au genre Mentha Cependant la plupart des études ont porté sur les huiles essentielles, alors qu'il y a beaucoup moins de rapports concernant les activités biologiques des extraits poly phénoliques de ces espèce [38]. Par conséquent, le but de notre travail était d'examiner les activités antioxydants des extraits poly phénoliques de l'espèce Menthe pulegium.

II.2.8. Les huiles essentielles

La menthe pouliot contient des huiles essentielles. C'est un liquide rouge jaunâtre, d'odeur très forte, soluble dans l'alcool, composé de 75 à 80% de pulégone liquide incolore d'odeur aromatique -qui se montre antiseptique- et de menthol, de limonène lévogyre, de dipentène [39]. Le rendement moyen en huiles essentielles a été exprimé en millilitre par rapport à 100 g de matière végétale sèche. Ce taux est de 3,30 % pour la menthe pouliot. [40]

II.2.9. Autres composants

La menthe pouliot contient également du sucre, du tanin, des matières résineuses, pectiques, cellulosiques, une oxydase, une peroxydase, une catalase. [41]

II.2.10. Pharmacologie

a. Activité antibactérienne

L'étude de Dimitrios et ces collaborateurs en 2012 a montré que l'extrait méthanoïque de l'espèce Mentha pulegium a une activité antibactérienne contre Staphylococcus aureus (bactérie de gram positif). [42]

b. Activité antioxydant

L'étude de Dimitrios et ces collaborateurs en 2012 a montré que les extraits méthanoïques et aqueuses du pouliot possèdent une activité de piégeage des radicaux libres, les résultats sont en accord avec ceux montrés dans plusieurs recherches (Berselli et al. et Mata et al, 2007). [41]

c. Activité antifongique

Le pouvoir antifongique des huiles essentielles de M. pulegium a été étudié vis-à-vis de deux champignons), par Hmiri et ces collaborateurs, elle a provoqué une inhibition de la croissance d'A. Alternata et de P. expansum. [43]

d. Autres activités

Quelques effets pharmacologiques des huiles essentielles de la menthe pouliot comme l'effet abortif sur les rats, l'activité cytotoxique humaines, et son effet antioxydant sont confirmés. [44]

Figure 8 .photo de *Mentha pulegium*

II.3. NOMENCLATURE

II.3.1. Plante d'étude *Mentha pulegium*

La plante qui a fait l'objet de notre travail est une plante médicinale aromatique utilisée par les habitants de la région d'Adrar, elle est connue sous le nom de feliou

Le nom de « pouliot » vient du latin pulegium, qui dérive de pulex: la puce; la plante ayant la propriété d'éloigner les puces. [45]

II.3.2. Classification

La classification de l'espèce *Mentha pulegium L.* est donnée dans le tableau suivant

Tableau 3. Classification de *Mentha pulegium*

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales ou Verbenales
Famille	Lamiaceae ou Labiées
Genre	Mentha
Espèce	*Mentha pulegium L*

II.4. PROPRIÉTÉS THÉRAPEUTIQUES

La menthe pouliot, connue sous le nom vernaculaire arabe de «Feliou», est largement utilisée en médecine populaire dans de nombreuses cultures [46] Les parties aériennes fleuries de cette plante sont traditionnellement utilisées pour leurs propriétés antimicrobiennes, expectorantes, carminatives et antispasmodique dans le traitement du rhume, la bronchite, la tuberculose, la sinusite, le choléra, les intoxications alimentaires, les flatulences et les coliques intestinales. [47] Elle fortifie tout le système nerveux, stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible, la menthe rend d'éminents services contre la nervosité et les différentes manifestations nerveuses

II.5. COMPOSITION CHIMIQUE

La composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* a fait l'objet de nombreuses publications. Elle est caractérisée par la présence majoritaire de cétones possédant un squelette méthanique. En effet, les compositions décrites sont dominées soit par la pulégone 80,3% au Maroc [48] soit par la pipériténone 83,7- 97,2% en Grèce. [49]

CHAPITRE III :

MATÉRIELS

&

MÉTHODES

III.1. EXTRACTION D'HUILE ESSENTIELLE

II.1.1. But

L'objectif de cette expérience est d'obtenir la plus grande quantité d'huile essentielle pure de la plante *Mentha pulegium* .

III.1.2. Matériels et Méthodes experimentales

a. Matière végétale

- **L'origine**

La plante d'étude *Mentha pulegium* a été obtenue durant la période décembre 2021-mars 2022 à partir de trois endroits dans la région d'ADRAR et d'AIN SALEH.

L'identifiée botanique de l'espèce a été effectuée par le botaniste Mr SOUDI, maître de conference "B", au niveau du département des sciences de la nature et de la vie, université de Ahmed draya D'Adrar.

- **Traitement préliminaire de la plant**

Les racines, les fleurs et les tiges sont élininées.

La partie aérienne feuilles est récupérée.

Les feuilles sont lavées et séchées à l'abri de la lumière dans un endroit propre, puis broyée à la main et conservées dans des récipients à l'abri de l'humidité.

Figure 09. Feuilles séchées de *Mentha pulguim*

b. Matérials

L'hydrodistillation a l'aide de clevanger est la méthode la plus employée pour extraire les huiles essentielles. Cette méthode consiste à immerger directement la partie de la plante à extraire dans l'eau chauffée jusqu'à l'ébullition pendant 3 heures. L'huile essentielle est évaporée avec la vapeur d'eau. Ces derniers sont hétérogènes sont alors condensées à l'aide d'un réfrigèrent. Le distillat est ensuite récupéré dans un erlenmeyer. [50]

III.1.3. Protocol expérimentale

Pesez 150 gramme de feuilles et mettez-les dans 3,5 litres d'eau distillée, nous mettons le mélange dans un ballon puis chauffe ballon jusqu'à l'ébullition 5heures. Chaque 30 minute récupères les huiles dans l'ampoules à décontée.

Figure 10. Etape d'extraction de l'huile essentielle par l'hydrodistillation.

III.1.4. Détermination des rendements en huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenu et la masse du matériel végétal à traiter. Le rendement est calculé par la formule suivante :

$$Rdt\% = M/M_0 \times 100$$

Rdt% : Rendement en huile essentielle.

M : Masse d'huile essentielle récupéré (g).

M0 : Masse de matière végétale à traiter (g).

III.2. ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

III.2.1. Activité antioxydante

a. Test de DPPH

Pour évaluer l'effet antioxydant d'une solution alcoolique (méthanol ou éthanol) des trois types de l' huiles pour plante *Mentha puliguim* nous avons procédé au test de piégeage par le radical libre DPPH (2.2'-diphényl-1- picrylhydrazyl). [34]

b. Estimation du pouvoir antiradicalaire par la méthode du DPPH

Le test au 2,2-diphényl-2-picryl-hydrazyle (DPPH), permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de l'IC50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait. Le DPPH est un radical libre de couleur violette qui devient jaune quand il est réduit par un donneur de proton H^+, la décoloration facilement mesurable par spectrophotométrie à 517 nm, et par conséquent une diminution de l'absorbance [34].

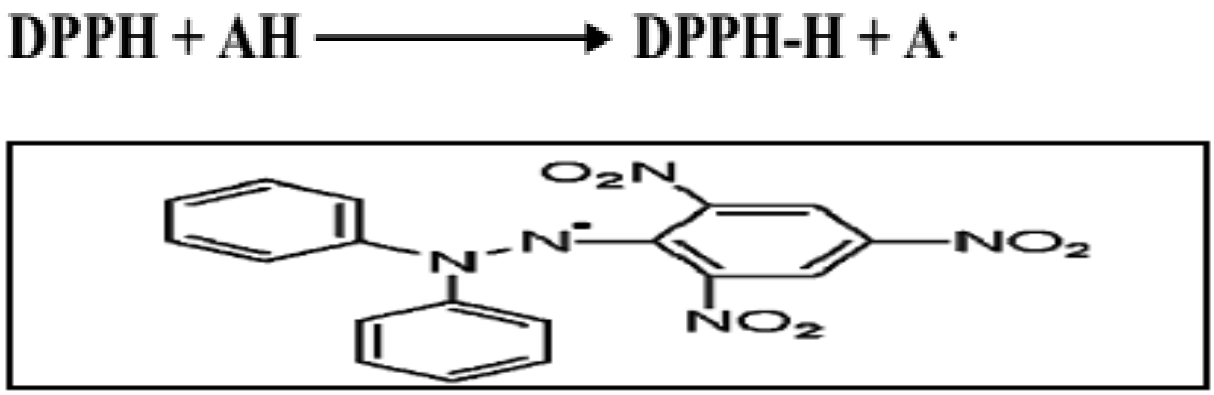

Figure11. Structure chimique du radical libre DPPH• (2,2 DiPhenyle-1-Picryl-Hydrazyle. (Marc et al., 2004).

Le degré de décoloration indique le potentiel d'élimination des radicaux libres de l'échantillon = antioxydant. Les antioxydants connus tels que la cystéine, le glutathion, l'acide ascorbique, le tocophérol et les composés aromatiques polyhydroxylés (hydroquinone, pyrogallol, etc.) réduisent et décolorent le 1,1- diphényl-2-picrylhydrazyl par leur capacité à donner de l'hydrogène. [51]

La capacité de céder des hydrogènes par les extraits est mise en évidence par une méthode spectrophotométrique en suivant la disparition de la couleur violette d'une solution alcoolique (méthanol ou éthanol) contenant le radical libre DPPH• comme l'illustre la figure suivante où AH est un antioxydant (Figure12).

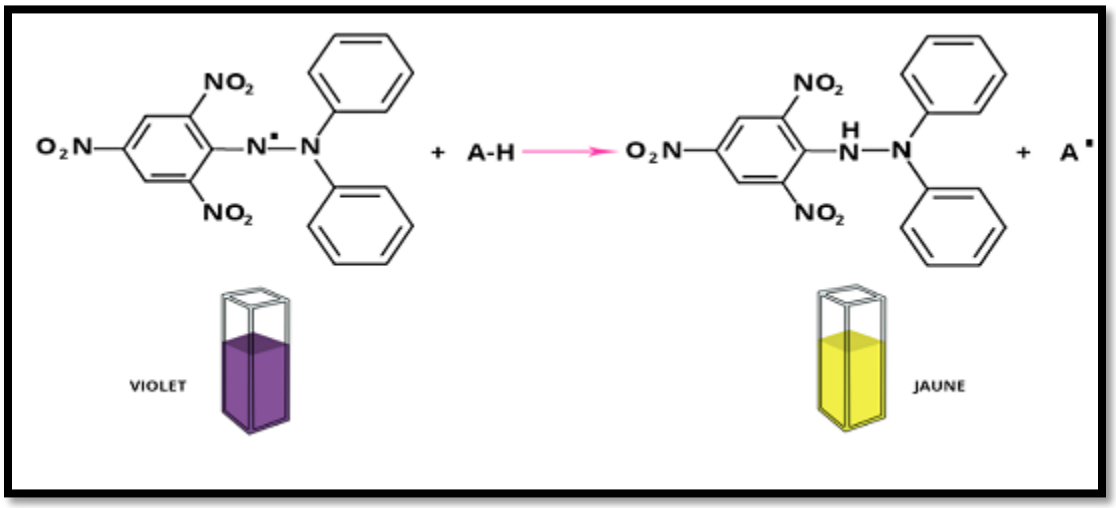

Figure12. Pouvoir antiradicalaire par la méthode de DPPH

c. Produits utilisées

Acid ascorbique**:**1 mg

DPPH:2.4 mg/ml

Extrait:2 mg(en trois types)

Méthanol

d. Préparation de la solution DPPH

Pour préparer la solution de DPPH de concentration de 60 µM, on a dissout 2.4mg de DPPH dans 100 ml dans Méthanol dans une fiole couvert d'aluminium. Cette fiole est mise dans un bain de glace sous agitation pendant une heure.

e. Préparation des dilutions des extraits

Pour les quatre extraits, éther de pétrole, chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol de myrte et *Menthe pouliot*, ont été diluées avec le méthanol (éthanol) pour préparer des solution à différentes concentrations.

f. Mode opératoire

Dans des tubes secs, un volume de 50 µl de différentes concentrations de chaque extrait ou de standard (acide ascorbique) est ajouté à 1950 ml de la solution alcoolique du DPPH fraichement préparée.

En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en mélangeant 50 µl de méthanol MtOH (ou ethanol EtOH) avec 1950 µl de la solution alcoolique de DPPH, le test répété 3 fois pour chaque extrait ou de standard (acide ascorbique).

Le mélange réactionnel a agité quelques secondes et ensuite gardé à l'abri de la lumière à température ambiante. Après 30 minutes d'incubation dans le bain ultrason, l'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

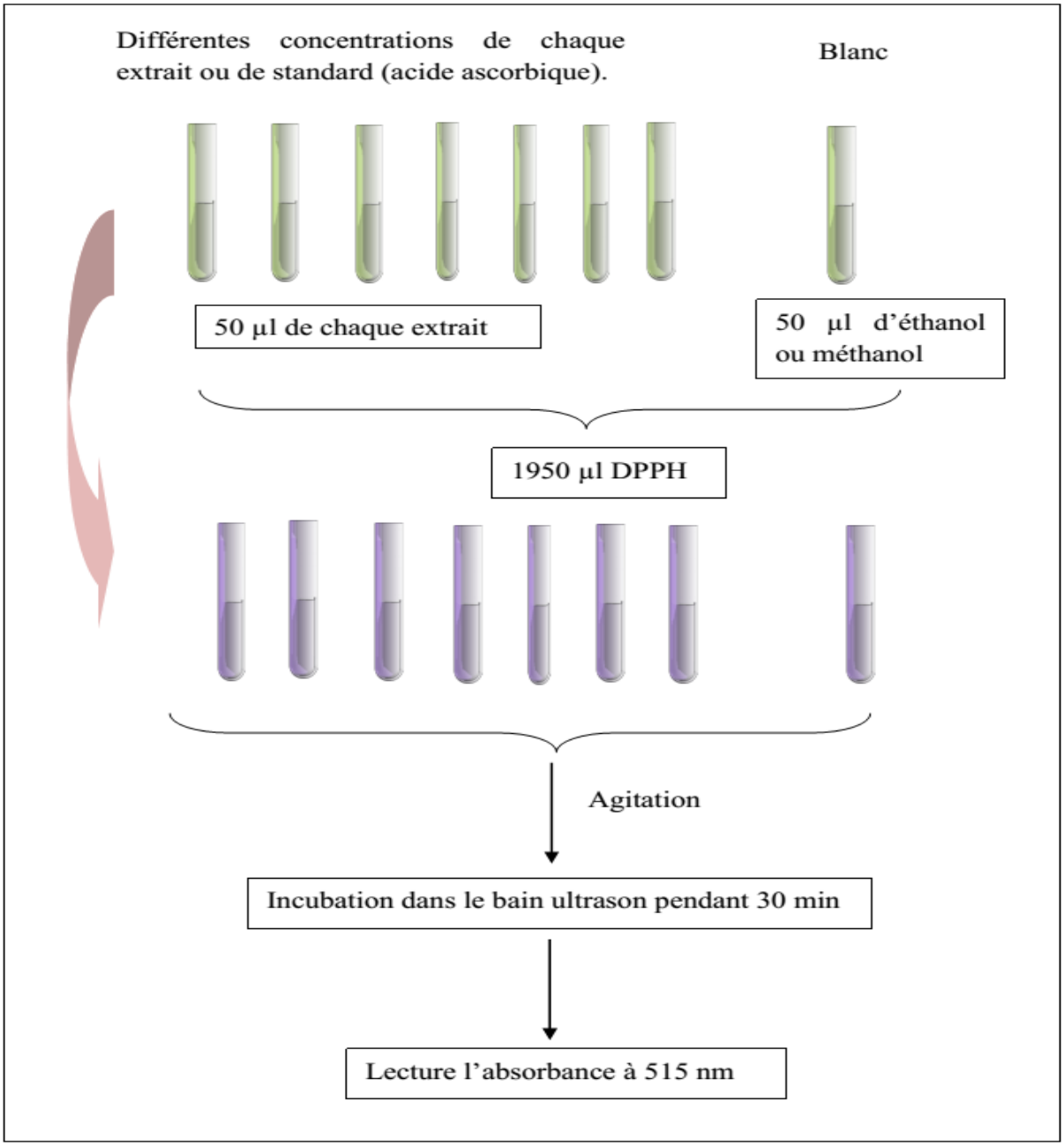

Figure13. Protocole de la mise en œuvre du test DPPH.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH.

Ce pourcentage est calculé selon la formule suivante :

I% PI= ((A contrôle négatif –A extrait) / A contrôle négatif) X 100A contrôle négatif : correspond à l'absorbance du DPPH sans antioxydant après le temps de la réaction.

A extrait : correspond à l'absorbance de l'échantillon avec DPPH après le temps de la réaction.

➢ **Calcul des IC_{50}**

IC_{50} ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH

●. Les IC_{50} sont calculés graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés ; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. [52]

III.2.2. Capacité antioxydante totale

Ce test est basé sur la réduction du molybdène (VI) en molybdène (V) par l'extrait de plante. Cette réduction induit, à pH acide, la formation du complexe phosphate/Mo (V) de couleur verte. Une prise de 100 µl de l'huile essentielle diluée dans le méthanol est mise en réaction dans un tube avec 1ml d'une solution composée d'acide sulfurique (0.6 N), de phosphate de sodium (28 mM) et de molybdate d'ammonium (4 mM). Les tubes sont incubés à 95°C pendant 90 mn. Après refroidissement jusqu'à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 695 nm contre un blanc contenant que du méthanol à la place de la solution d'huile essentielle. Comme la composition des huiles essentielles n'est pas encore connue, l'activit é antioxydante totale est exprimée en milligramme équivalent d'acide ascorbique par gramme d'extrait [53].

III.2.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction (RI) est utilisé :

- Pour identifier une HE.

- Comme critère de pureté des huiles essentielles.

- Pour vérifier la qualité de la distillation : une distillation trop rapide, à température trop

élevée, trop lente abaisse l'indice de réfraction

L'indice de réfraction des HE est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20 °C = 1.3356.

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

Utiliser un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1,300 et 1,700, l'appareil est ajusté de manière à donner une valeur de 1.333 pour l'eau distillée à la température de 20 °C.

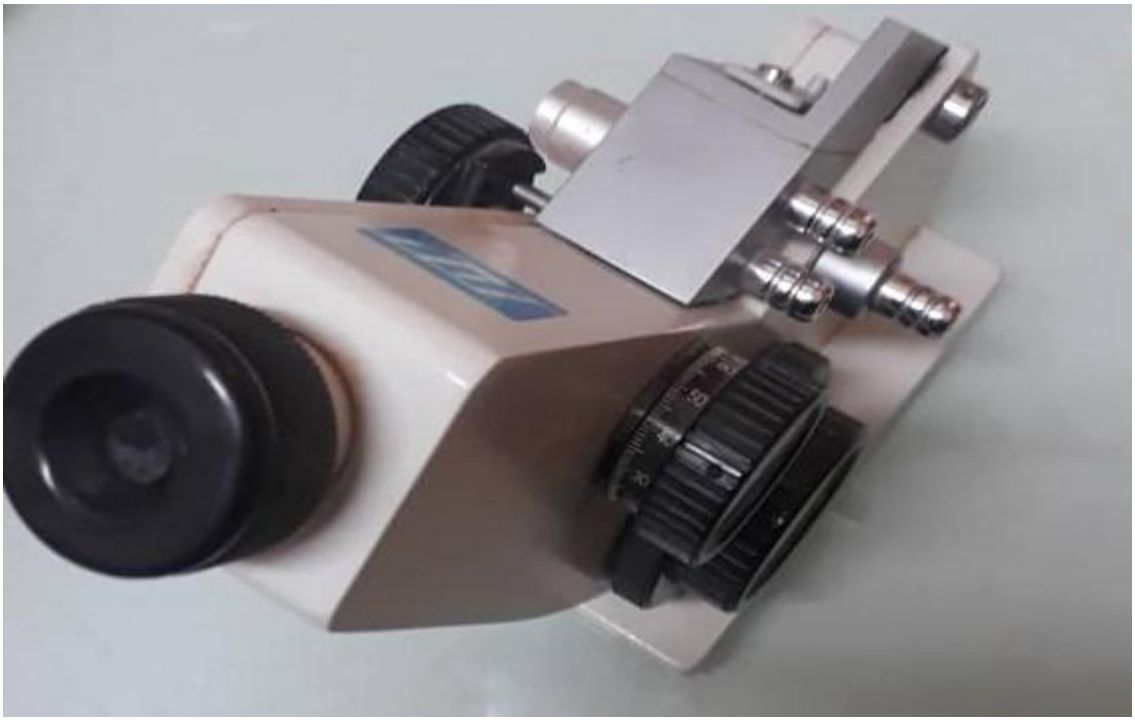

Figure14. Photo de réfratométre (labortoire de unversité de Adrar)

III.2.4. Miscibilité

Une huile essentielle est dit miscible à V volumes et plus d'éthanol de titre alcométrique détrminée à la température de 20Cº lorsque le mélange de 1volume de l'HE considérée avec Vvolum de éthanol est rempide et le reste aprés addition graduelle d' éthanol de meme titre, jusqu à un total de 20 voulmes [54] .

III.2.5. Densité

Définition: C'est un le rapport de la masse d'un certain volum d'huile essentille à la masse d'un égal voulme d'eau distillée. [55]

Princip: à aide d'un pycnométre pesé successivement de voulmes égaux d'huile essentille et d'eau la températeur de 20Cº.

La formule: m_2-m_0/m_1-m_0

m_0: la masse de g du pycnométre vide.

m_1: la masse de g du pycnométre d'eau.

m_2: la masse de g du pycnométre rempli d'huile essentielle.

CHAPITRE IV :

RÉSULTATS

&

DISCUSSIONS

IV.1. RÉSULTAT D'EXTRACTION

IV.1.1. Masses d'huile essentielle

Après le processus d'extraction de trois types de feuilles de plante *Menthe pluguim*, nous avons obtenu la quantité d'huiles représentée dans le tableau suivant :

Tableau 4. Quantités d'huile essentielle obtenues

Les types de echantillons de *Mentha pluguim* utilisée	Ech 1: **Sauvage arossée**	Ech2: **Cultivé**	Ech3: **Sauvage**
Les masses de l'huile essentille	m (n)=344.6g m(EH)=4.7053g	m (n)=300g m (Eh)=6.158g	m (n)=149.99g m (EH)=0.7496g

IV.1.2. Rendements en huiles essentielles

Les rendements en huiles essentielles des espèces sont :

Echantillon 01:HE(SA) Rdt=3.25%

chantillon 02:HE(C) Rdt =2.05%

Echantillon 03:HE(S) Rdt=0.49%

Les rendements de notre huiles essentielles pour les trois échantillons sont : pour les trois huiles respectivement: Rdt(SA)=3.25%, Rdt(C)=2.05% et Rdt(S)=0.49%

Comme nous l'avons découvert, grace à notre recherche bibliographie sur les rendements des huiles essentilles usagée, nous avons atteint:

- ✓ Le rendument de l'huile essentille de l'échantillon (C) estimée à 2.05% est proche du rendement d'huile essentille trouvée en 1986 par de Chili a un rendement en l'huile essentille de plante *Mentha puleguim* à 2,3%. [56]
- ✓ Quant au rendement de l'huile essentille de échantillion (S) estimée à 0,49% est proche du rendement d'huile essentille de même plante d'orgine Brésilienne, qu'elle est trés faible selon Teixeira Durate qui a trouvé 0,42%. [57]

- ✓ Par contre le rendement de l'échantillion (SA) qui estimée à 3,25%, on constate qu'elle a donner le rendement le plus elèvé donc on peut dire que l'huille essentille de cet échantillon est la plus efficace parmi les huiles essentilles obtenues.

IV.2. RÉSULTATS DES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES DES HUILES ESSENTIELLES

IV.2.1. Évaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée par deux méthodes, le piégeage du radical libre DPPH et la capacité antioxydante totale (CAT). [57]

À partir des représentations graphiques on a pu mesurer les valeurs critiques représentées dans le tableau suivant :

Tableau 5. Activités antioxydantes des trois échantillons d'huiles essentielles

	CI50/ DPPH (µg/ml)	**Capacité antioxydant totale**
HE (SA)	868,151	16,6969
HE (C)	348,8055	21,6889
HE (S)	8,1995	96,7553
Acide ascorbique	0,0147	/

Commençant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH, d'après les résultats du tableau 5, on peut constater que l'huile essentielle de l'échantillon HE (S) est le plus actif avec une concentration de 8,1995 µg/ml pour piéger 50% du radical libre DPPH, tandis que les deux huiles essentielles des échantillons HE (C) et HE (SA) sont les moins actives avec des CI_{50} dépassant les 240 µg/ml. [58]

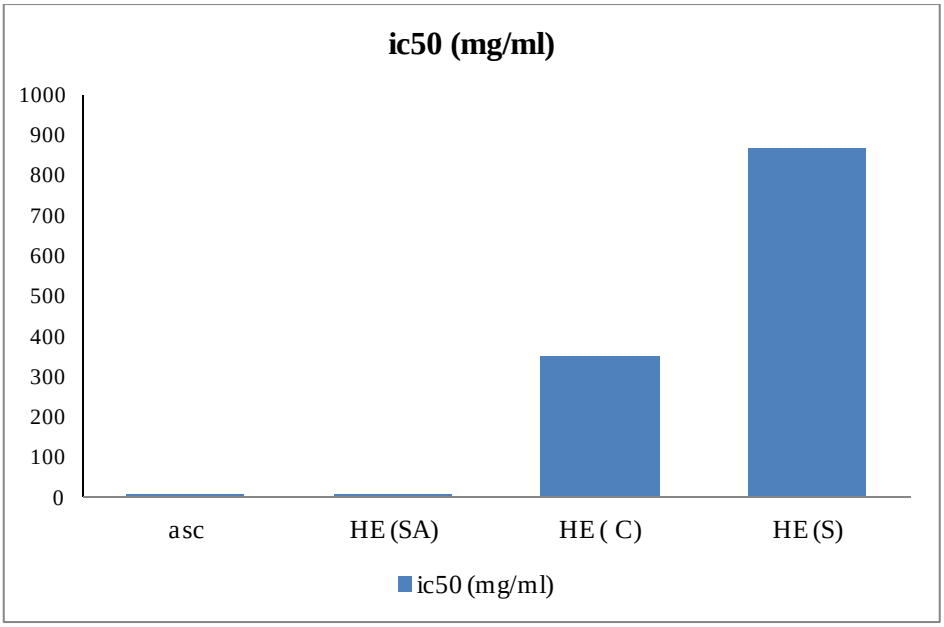

Figure 15. Les CI50 de piégeage de DPPH des trois types des huiles essentielles de *Mentha Pluguim*

IV.2.2. Résultats du rendement (%) radicalaire

Le pourcentage (%) radicalaire de l'acide ascorbique HE(ASC) avec l'échantillon d'huile essentielle HE(SA) est très proche, ainsi que pour le % radicalaire de l'échantillon d'huile essentielle HE(C) et d'HE(S), qui représentés dans les courbes suivantes :

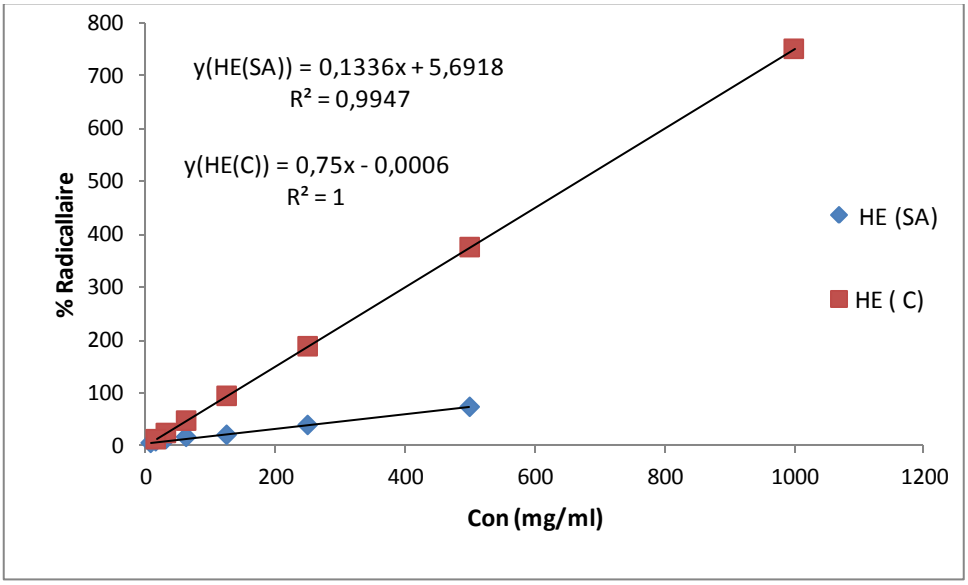

Figure16. Courbe de pourcentage %radicalaire de les HS ((ASC),(SA))

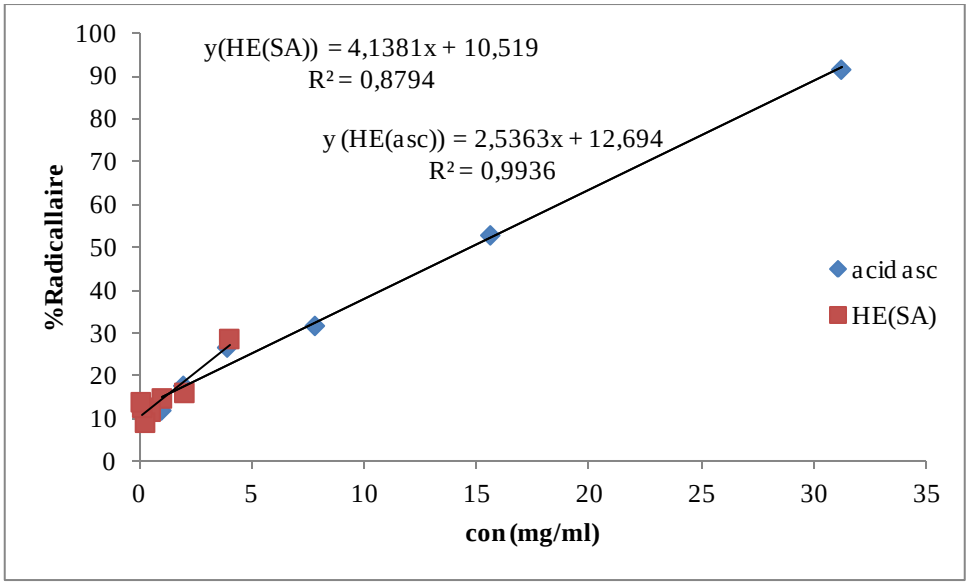

Figure17. Courbe de % radicalaire des HE ((C), (S))

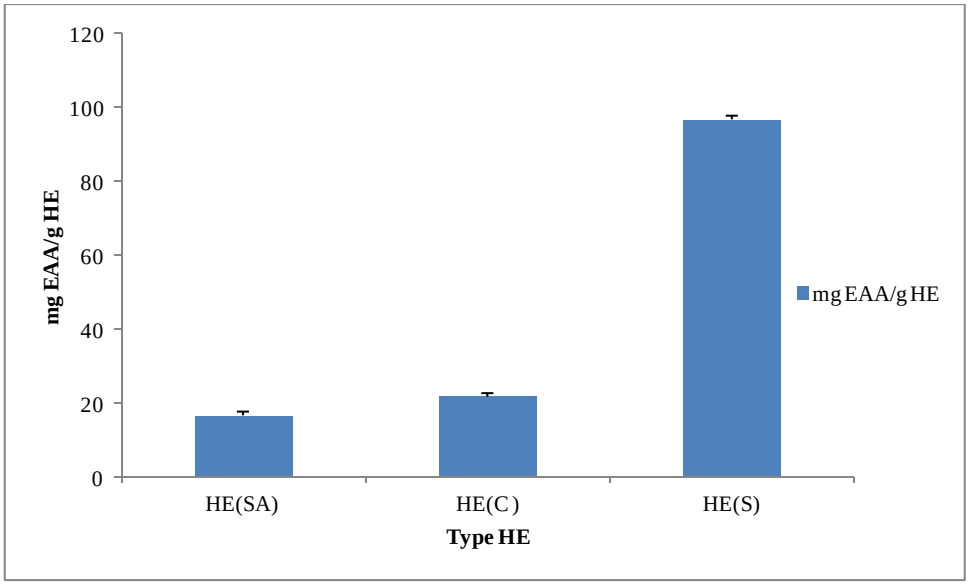

Figure 18: Capacité antioxydante totale exprimée en mg EAA/g HE des huiles essentielles.

IV.2.3. Discussion des résultats d'activité antioxydante

Ces dernières années, l'intérêt porté aux antioxydants naturels, en relation avec leurs propriétés thérapeutiques, a augmenté considérablement. Des recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification

de ces composés à partir de plusieurs substances naturelles à savoir, les plantes médicinales et les produits agroalimentaires. [50,51]

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques. En effet, la plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturelle possèdent des groupes hydroxy phénoliques dans leurs structures et les propriétés antioxydantes sont attribuées en partie, à la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH•) et super oxydes (O_2•). [52,53]

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer, in vitro et in vivo, l'activité antioxydante par piégeage de radicaux différents, comme les peroxydes ROO• par les méthodes ORAC (Oxygène Radical Absorbance Capacité) et TRAP (Total Radical-Tramping Antioxydant Paramètre) ; les ions ferriques par la méthode FRAP (Friction Reding Antioxydant Paramètre) ; ou les radicaux ABTS• (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique), ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH• (diphényl-picrylhydrazyle). [52-54]

Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation et la nature diversifiée des antioxydants, avec des composants à la fois hydrophiles et hydrophobes, il n'y a pas une méthode universelle par laquelle l'activité antioxydant peut être mesurée quantitativement d'une façon bien précise. Le plus souvent il faut combiner les réponses de tests différents et complémentaires pour avoir une indication sur la capacité antioxydante de l'échantillon à tester. [55,56]

Dans ce cadre, dans notre étude, on s'est intéressé à l'évaluation de l'activité antioxydante par deux différentes méthodes, à savoir :

La capacité antioxydante totale : Il s'agit d'un indice de la capacité combinée de tous les antioxydants présents dans l'aliment ou l'extrait naturel à neutraliser les radicaux libres.

Le test DPPH (Diphenyl-picrylhydrazyl): Ce procédé est basé sur la réduction du radical synthétique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl, qui est un radical stable et de coloration violette.

- **Test de DPPH**

La concentration d'huile essentielle de *Mentha pulegium* qu'on a recueilli d'Adrar et Ain Salah qui inhibe 50% de DPPH est de 868,151 µg/ml par port de et 384,8055 µg/ml parraport de Ech02 et 8,1995 µg/ml parrapot d'échantillon HE(C), un résultat comparable à celui trouvé par Ouakouak et al,. en 2014, la plante était récoltée de la région de Reguiba, El-Oued (IC50= 157 µl/ml). [59]

- **Capacité d'antioxydante totale**

Il est bien connu que l'activité antioxydante des huiles essentielles de notre plante contenant des terpènes est due à leur capacité à être donneurs d'atomes d'hydrogène ou d'électrons et à capturer les radicaux libres et c'est le cas pour l'huile essentielle de *Mentha pulegium*.

Les résultats de cratérisée physique de l'huile essentielle de *Mentha puleguim*

Tableaux 6. Propriétés physiques des huiles essentielles d'HE(SA) et HE(C)

	L'indice de réfraction	Micisibilité	La densité
HE(SA)	1,47125	800ul	0,99-1,38
HE(C)	1,4745	900ul	0,70-1,01

Pour l'indice de réfraction nous amener: HE (SA) =1,471 et HE(C)=1,474(tableaux 06) , d'aprés la littirature, la valeur de la pureté d'huile essentill est éstimé à 1,473, donc ,à traver cela nous constatons que les deux huile sont pures.

Nous passons mintenant à la micisibilité nous obtenus:les deux huiles essentielles de la plante *Mentha pulgeuim* pour les deux échantillons sauvage arrosé et cultivée sont respectivement 800 µl et 900 µl (voir le tableaux 06), alors on peut dire que les deux huiles sont solubles dans le soulvant.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* est composée de 88,56% de cétones, dont les majoritaires sont le pulegone (45,17%), menthone (33,98%), et on constate aussi la présence du trans-dihydrocarvone, iso-menthone et le piperitenone. Au total, 19 composants ont été identifiés, représensant 92,11% des composés volatils de l'HE.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

Après notre étude sur l'huile essentielle d'une plante *Mentha pulegium* dans les régions d'Adrar et d'Ain Saleh .Nous avons extrait les points importants suivants :

Les huiles essentielles de *Mentha pulegium* a été extrait par l'hydro distillation sur un montage de type «Clevenger1928».

Les trois types que nous avons utilisées dans notre étude de la plante *Mentha puleguim* sont : Sauvage arrosée (SA), Cultivée (C) et Sauvage (S)

Les rendements obtenus des trois types (SA), (C) et (S) sont respectivement : 3 ,25% ; 2,05% et 0,49%, donc le *Mentha puleguim* de l'échantillon sauvage arrosé (SA), a donner un meilleurs rendement de 3,25%.

L'activité antioxydante des trois échantillons par les deux méthodes : DPPH et capacité antioxydante totale a donné les résultats suivants :

- la méthode de DPPH dont les résultats montrent que le l'huile essentielle de l'échantillon (SA) possède une bonne activité, alors ces substances sont considérées comme des agents antioxydants qui ont été particulièrement étudiés en raison de leurs utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé.
- La capacité antioxydante totale dont les résultats montrent que le l'huile essentielle de l'échantillon (S) possèdent un meilleurs résultat est à 96,7553 µg/ml.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIES

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIES

[1] S. JEDIDI1. F. ALOUI. H. SELMI . K. RTIBI1 . S. DALLALI. 2018. Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (Salvia officinalis L.) in Tabarka and Aïn Draham (Northwestern of Tunisia) . Journel of new sciences. vol CRIS 18. pp : 2286-5314.

[2] M.ERNADET.2000. Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles

[3] L. BREMNESS. 1998. Les plantes aromatiques et Médicinales, Bordas Editions. essentielles, Editions Dangles]- EberhardT. Lostein A. Plantes aromatiques. Ed TEC et DOC : France.

[4] N.RAAMAN. 2006. Phytochemical techniques. New India Publishing, New Delhi,

[5] JA.FEURTADO.S. BORCHARDT.2005. In vivo 13C NMR metabolite profiling : potential for understanding and assessing conifer seed quality. J. Exp. Bot. 56 : 2253-2265. IndeISBN 10

[6] S.BOUTEFNOUCHET.M.FAUCON. 2018. Argumentaire version longue p7-10

[7] F.TOMI.J. CASANOV. 2006. 13C-NMR as a tool for identification of individual components of essential oils from Labiatae, A review. Acta Horticulturae, 723 : 185-192.

[8] D.BAUDOUX. M.BRED. A.ZHIRI. 2012. Aromathérapie scientifique : Huiles essentielles chémotypées. 1e éd. Belgique : J.O.M, 98 pages.

[9] S.Lemesle . 2012,. Huiles essentielles et eaux florales de Madagascar : Guide pratique d'une aromathérapie innovante ; 2èmeEdition ; Sologne Graphic ; ISBN : 978-2-7466-3697-2

[10] A.TOSUM.E. DOGAN. 2006. Essential oil composition of Seseli andronakii Woron. Growing in Turkey. Flavour Fragr. J. 21 : 257-259.

[11] P. DUGA. L.MONDELLO. 2004. Comprehensive two-dimensional chromatography in food analysis. J. Chromatogr. A, 1054: 3-16.

[12] D. ROUX.2011. Conseil en aromathérapie. 2e éd. Pays-Bas : Pro-Officina, 187 pages.

[13] N., DOHOU Yamini K. TAHROUCH ,L ,IDRISSI (2003): screening phytochimiqued'une endémique Ibéro-Marocaine, Thymelaea lythroides. Bull. Soc. Pharm, Bordeaux, 142 : 61-78.

[14] L. DUVAL. 2012. Les huiles essentielles à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en Pharmacie. Université de Rouen. pp: 244-247

[15] AFNOR (Association Française de Normalisation). AFNOR (1996 Huiles essentielles, recueil de normes françaises.

[16] M. LUCCHESI. 2005. Extraction sans solvant assistée par les micro-ondes. Thèse pour le diplôme de docteur en sciences (chimie). Université de la Réunion

[17] K. TULEY. 1996. de Silva A manual on the essential oil industry. United Nations Industrial Development Organization 232p.

[18] S. HANDA, S. KHANUJA , S.P.S. LONGE, G. RAKESH . 2008. Extraction technologies for aromatic and medicinal plants. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology 260p.

[19] M. PIOCHON. 2008. Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Mémoire pour la maitrise en ressources renouvelables. Université du Québec à Chicoutimi

[20] S. PERINO-ISSARTIER , C. GINIESA , G. CRAVOTTO , F. CHEMATA. 2013 . A comparison of essential oils obtained from lavandin via different extraction processes: Ultrasound, microwave, turbohydrodistillation, . Journal of chromatography A, 1305 steam and hydrodistillation: 41-47,.

[21] F. GASPAR, G. LEEKE. 2004. Comparison Between Compressed CO2 Extracts and Hydrodistilled Essential Oil. Journal of essential oil research, 16 : 64-68.

[22] N. TVANAPON.,P. WETITAYALUNG ,J. CHAROENYEERAOON . 2010 Comparison of Essential Oils Compositions of Citrus maxima Merr. Journal of essential oil research, Peel Obtained by Cold Press and Vacuum Stream Distillation Methods and of Its Peel and Flower Extract Obtained by Supercritical Carbon Dioxide Extraction Method and Their Antimicrobial Activity. 22 : 71-77

[23] A. FARHAT .2010. Vapo-Diffusion assistée par Micro-ondes : Conception, Optimisation et Application. Thèse pour le diplôme de docteur en sciences (sciences des procédés, sciences des aliments). Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse & L'Ecole Nationale d'Ingénieurs de Gabès

[24] M. KOSAR.,T. OZEK, M.KURKCUOGUL ., K.H.C. BASER .2007. Comparison of Microwave-Assisted hydrodistillation and hydrodistillation methods for the fruit essential oils on Foeniculum vulgare. Journal of essential oil research, 19 : 426-429

[25] T. GOLMKANI, K. REZAIE . 2008. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from Thymus vulgaris L. Food chemistry, 109 : 925–930

[26] M. GAVAHIAN , A. FARAHNAKY , K. JAVIDNIA , M. MAJZOOBI .2012. Comparison of ohmic-assisted hydrodistillation with traditional hydrodistillation for the extraction of essential oils from Thymus vulgaris L. Innovative food science and energing technologies, 14 : 85-91

[27] J-L GUIGNARD. 2001 .Botanique systématique moléculaire. Masson, Paris, 290.

[28] J-L. GUIGNARD .1998. Abrégé botanique. 2ème Edition Masson, Paris.278.

[29] M. BLAMEY W.C. Grey. 2009. Toutes les fleurs de Méditerranée. Les fleurs, les graminées, les arbres et les arbustes. Delachaux et Niestlé, 560.

[30] J. LAMBINONS. J. DELVOSALLE. DUVIGNAUD .2004. La nouvelle flore de la Belgique du Grand-Duché de Luxembourg, du Nord de la France et des régions voisins. 5eme édition, Jardin Botanique National de Belgique, 1167.

[31] B. BOULLAR.2001. plante médicinale du monde réalités t croyances. Editions Estem, Paris.

[32] A. NABTI, R. CHEDDANI.2009. étude comparative de l'activité antioxydante de la menthe pouliot « Mentha pulegium L. » récoltée de différentes régions. Mémoire d'ingénieur d'état en sciences alimentaires.

[33] P. FOURNIER.1999. plante médicinale. Connaissance et mémoires européennes, 3 tomes, Paris, 636

[34] S.SUTURE. 2010. étude de la composition chimique d'huile essentielles et d'extraits de menthe de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, spécialité. Chimie Organique et Analytique.

[35] P. QUEZEL, S. SANTA. 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques mérionales. Centre national de la recherche scientifique, 2 tomes, Paris. 1170. réunis, 540.

[36] A. BELOUED. 2009. plantes médicinales d'Algérie. 5ème édition, 255

[37] J. BRUNETON. 1999. Pharmacognosie, photochimie, plantes médicinales. 3ème éd, Lavoisier, Paris, 1120.

[38] H. LAHSISSENE , A. KAHOUDJA , M.TIJANE et S. HSEINI . 2009. Catalogue des plantes médicinales utilisés dans la région de Zaer (Maroc occodental). le jeunia, Liège (Belgique), 24. BE ISSN 0457-4184.

[39] S.HMIRI, M. RAHOUTI, Z. HABIB, B. SATRANI, M . GHANMI et El M. AJJOURI. 2011. evaluation du potentiel antifongique des huiles essentielles de Mentha pulegium et d'eucalyptus camaldulensis dans la lutte biologique contre les champignons responsables de la détérioration des pommes en conservation. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Maroc, 80 :824-836.

[40] J. BRUNETON. 2008. plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Editions Lavoisier. 3ème édition, 1120.

[41] D. STAGOS, N. PORTESIS, C. SPANOU, D. MOSSIALS, N. ALIGIANNIS,

E. CHAITA, C. PANAGOLIS, R.SKALTSOUNIS, L .TSATSA, A.M. KOURETASA. 2012. Correlation of total polyphenolic content with antioxidant and antibacterial activity of 24 extracts from Greek domestic Lamiaceae species. Food and Chemical Toxicology, 50(11):4115–4124

[42] L. DELILLE. 2007. les plantes médicinales d'Algérie. Berti éditions, Alger, 240

[43]. S.JOUAULT. 2012. la qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité.hal-01732038.

[44] P. GOETZ, K. GHEDIRA. 2012. Phytothérapie anti infectieuse. Edition : springer, p : 313-318.

[45] A. BELOUED. 2009. Plantes médicinales d'Algérie. Offices des publications universitaires.5 éme édition, p : 136-140.

[46] P. PRIETO ,M.PINEDA, M. AGUILAR, 1999, Spectrophotometric Quantitation of Antioxidant Capacity through the Formation of a Phosphomolybdenum Complex: Specific Application to the D [39] S. DRAMANE et al. 2010. Evaluation des activités antimicrobiennes et antiradicaux libres de quelques taxons bioactifs de Côte d'Ivoire, Euro Journal of Scientific Research 40 (2), p: 307-317.

[47] M. BENDAHOU .2007.Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de l'Ouest Algérien. Thèse de Doctorat d 'Etat, option Biochimie, université Abou Bah Belkaïd.

[48] M. ASHRAF et M.K.BHATTY. 1975. Studies on the essential oils of Pakistani species of the family umbelliferae. Part I. Trachyspermum ammi (L.) Sprague (ajowan) seed, Pakistan J. Sci. md. Res. 18, p: 232-235.

[49] C. SANCHEZ-MORENO.2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. International Journal of Food Science and Technology 8.p: 121-137.

[50] C. POPOVICI. I.SAYKOVA. et B.TYLKOWSKI . 2009. Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH, Revue de génie industriel 4, p : 25-39.

[51] G.BARTOSZ.2003.Generation of reactive oxygen species in biological systems. Comments on Toxicology, 9, p: 5-21.

[52] J.M. RICADO DA SILVA. N. DARMON. Y.FERNANDEZ. et S. MITJAVILA. 1991. Oxygen free radical scavenger capacity in aqueous models of different procyanidins from grape seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39, p: 549-1552.

[53] L. HUA. W.XIAOYU . L.PEIHONG . L. YONG. Et W. HUA. 2008. Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (Vitis vinifera) Seed Powder Assessed by Different Methods. Journal of Food and Drug Analysis, 16 (6), p: 67-73.

[54] S.P. WONGong .L. P.LEONG . et J.H.W. KOH. 2006. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants; Food Chemistry 99, p: 775–783.

[55] H.OUAKOUAK. M. CHOHRA . M.DENAN. 2015. Chemical Composition, Antioxidant Activities of the Essential Oil of Mentha pulegium L., South East of Algeria, International Letters of Natural Sciences, Vol. 3. p: 49-55.

[56] C. GARRIDO. T. AGUAYO. E. CLAVIJO. J. GOMEZ-JERIA and M. CAMPOS-VALLETTE., 2013.Journal of Raman Spectroscopy. 44. 1105-1110

[57] A.ZARGAI. 1990. Treatment with Plants, Pharmacogenosis. Tehran University Publications, Tehran, 2, 7-67. (

[58] C. BOUCHRA.M. ACHOURI.LM. IDRISSI HASSANI .2003. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of seven Moroccan Labiatae against Botry tiscinerea Pers:Fr. J Ethnopharmacol 89: 165-169.

[59] IM.ABU-Al-FUTUH.OH. ABDELMAGEED.RM. JAMAIL. 2000.A piperitenone oxide chemotype of Mentha longifolia (L.) Huds. Growing in Jordan. J. Essent. Oil Res. 12 (5), p. 530–532.

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

People'sDemocraticRepublic of Algeria

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة أحمد دراية- أدرار
المكتبة المركزية
مصلحةالبحثالببليوغرافي

Ministry of Higher Education and Scientific Research
University Ahmed Draia of Adrar
The central library

شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): شرقي يمينة

المشرف مذكرة الماستر الموسومة بـــ : Extraction d'huile essentielle et l'activité anti-oxydante de la plante Menthapuliguem

من إنجاز الطالب(ة): عبد النبي كنزة

و الطالب(ة): بن قادي ياسمين ودراوي خديجة

كلية : العلوم و التكنولوجيا

القسم : علوم الطبيعة والحياة

التخصص: بيوكيماء تطبيقية

تاريخ تقييم / مناقشة: 2022/06/09

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم / المناقشة، وان المطابقة بين النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.

وبإمكانهم إيداع النسخ الورقية (02) والاليكترونية (PDF).

- امضاء المشرف:

ادرار في : 2022/10/25

مساعد رئيس القسم:

مساعد رئيس قسم علوم الطبيعة والحياة
مكلف بالتدريس والتعليم في التدرج
أ . وايني عبد الرحمان

ملاحظة :لاتقبل أي شهادة بدون التوقيع والمصادقة.