

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn
Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس
مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

Melle Koulal Yassamine- Melle Salmi Manel Nihad

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN BIOLOGIE

Spécialité: Microbiologie Fondamentale

THÈME

**Etude de l'activité antioxydante et
insecticide de l'huile essentielle de
*Mentha pulegium L. de Mostaganem***

DEVANT LE JURY

Président : Mr Mekhaldi A.

Pr à l'Université de Mostaganem

Encadreur : Mr. Bahri F.

Pr à l'Université de Mostaganem

Examineur : Mr. Bouzened A.

MCB à l'Université de Mostaganem

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

Les louanges sont à ALLAH seigneur des mondes qui nous a comblés de grâce et nous a donné la force et la patience d'accomplir ce mémoire.

*Par ailleurs, nous tenons à remercier notre encadrant **Mr. BAHRI FOUAD** professeure au Département des sciences biologiques, Faculté SNV – Université de Mostaganem pour avoir dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, ses conseils et la confiance qui nous a accordée afin de réaliser ce travail.*

*Nous tenons aussi à remercier Mademoiselle **BRAIKIA K.** merci pour votre patience et votre aide. Nous vous souhaitons beaucoup de succès dans votre vie professionnelle et personnelle.*

*Nous exprimons nos vifs remerciements à **Mr. MEKHALDI A.** pour sa précieuse aide et ses conseils, et pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider le jury.*

*Nous tenons également à adresser mes vifs remerciements à **Mr. BOUZENED A.** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

Nous avons le plaisir d'adresser nos vifs remerciements à tous nos enseignants qui ont participé à notre formation.

Enfin, ne pouvant citer tous ceux et celles ayant participé de près ou de loin dans l'élaboration de ce travail, on leur adresse nos remerciements les plus sincères.

Dédicace

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 :

*Mes plus profonds remerciements vont à **mes parents**. Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenu, encouragé et aidé sans eux je n'y arriverais jamais à être la personne que je suis. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que l'expression de ma plus affectueuse gratitude ;*

*A ma soeur **NABILA** et son marie **MANSOUR** ; mon neveu **RAYAN** et ma nièce **RITEJ** pour tous ces bons moments que l'on continue à passer ;*

*A ma Collègue dans ce travail **MANEL NIHAD**.*

K. YASSAMINE

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude ;

Mon père paix à son âme ;

Ma sœur et mes frères pour les sacrifices et l'amour qu'ils ont témoigné à mon égard et qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité ;

Mes neveux et à toute ma famille ;

Tous ceux qui me sont chers ;

*A ma Collègue dans ce travail **YASSMINE**.*

S.MANEL NIHAD

Résumé

Dans le cadre de la valorisation des ressources naturelles, nous avons entrepris une étude théorique sur trois travaux réalisés sur une plante très utilisée par les populations nord-Africaines, à savoir la menthe pouliot. Le présent travail contribue en premier lieu à la connaissance de l'activité antioxydante et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. connue depuis l'antiquité européenne comme une plante médicinale appartenant à la famille des Labiées.

L'extraction de l'huile essentielle par hydro-distillation de type Clevenger réalisée sur des échantillons provenant de Rabat (Maroc), de Tlemcen et Laghouat en Algérie a permis de donner des rendements de 5.4%, 2.7% et 0.91% respectivement.

L'analyse par CPG/SM a permis d'identifier 21 composés dans l'HE de *Mentha pulegium* de la région de Tlemcen et Rabat et 26 composés dans celui de la région de Laghouat dont la pulegone est le composé le plus abondant (77,3%, 40,98 % et 76,9% respectivement).

L'évaluation de l'activité antioxydante par deux méthodes chimiques, a révélée des capacités anti radicalaires et réductrices remarquables. Ainsi les résultats de CI50 obtenues par le test de DPPH de l'huile essentielle de la menthe indiquent que celle-ci est apte à inhiber le radical libre DPPH avec des valeurs de 29.24 mg/ml et 3.07 mg/ml pour Tlemcen et Laghouat respectivement.

Par ailleurs, les CE₅₀ obtenues par le test de FRAP, sont de 39.4 mg/ml et 5.31mg/ml pour l'huile essentielle de Tlemcen et Laghouat en Algérie et de 0.0857mg/ml pour Rabat (Maroc).

L'étude de l'activité insecticide de la Penny royal (*Tribolium castaneum*) a montré que l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. d'Algérie et du Maroc a causé une mortalité de 100% à une concentration de 20 µl/l d'air après 12h d'exposition. Par contre, l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. de la Tunisie a provoqué une mortalité de 100% à une concentration de 586,2 µl/l d'air après 11h d'exposition.

Ces résultats très prometteurs peuvent être considérés comme point de départ pour des applications de cette plante aromatique dans les domaines de la santé, l'agriculture et pharmaceutique.

Mots clés : *Mentha pulegium* L., les huiles essentielles, activité antioxydante, activité insecticide, *Tribolium castaneum*.

ملخص

كجزء من تنمية الموارد الطبيعية ، أجرينا دراسة نظرية على نبات يستخدم على نطاق واسع من قبل سكان شمال إفريقيا ، وهو نبات عشبي. يساهم هذا العمل بشكل أساسي في معرفة بعض أنشطة مضادات الأكسدة والمبيدات الحشرية للزيت العطري لـ *Mentha pulegium L* المعروف منذ العصور القديمة الأوروبية كنبات طبي ينتمي إلى عائلة *Labiée*.

استخلص الزيت العطري بالتقطير المائي من نوع Clevenger الذي تم إجراؤه على عينات من الرباط (المغرب) وتلمسان والأغواط في الجزائر أعطت عوائد 5.4% و 2.7% و 0.91% على التوالي.

سمح تحليل GPC / MS بفحص 21 مركبًا في EO من *Mentha Pulegium* من منطقة تلمسان والرباط و 26 مركبًا في منطقة الأغواط بما في ذلك Pulegone باعتباره المركب الأكثر وفرة (77.3%) و 40.98% و 76.9% على التوالي).

كشفت تقييم النشاط المضاد للأكسدة بطريقتين كيميائيتين عن قدرة ملحوظة ضد الجذور الحرة و قدرات مخفضة. وبالتالي، فإن نتائج IC50 التي تم الحصول عليها عن طريق اختبار DPPH للزيت العطري للنعناع تشير إلى أن الأخير قادر على تثبيط الجذور الحرة DPPH بقيم 29.24 مغ / مل و 3.07 مغ / مل لتلمسان والأغواط على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، فإن EC50 الذي تم الحصول عليه عن طريق اختبار FRAP هو 39.4 مغ / مل و 5.31 مغ / مل للزيت العطري من تلمسان والأغواط في الجزائر و 0.0857 مغ / مل للرباط (المغرب).

أظهرت دراسة النشاط المبيد للحشرات من *Royal Penny (Tribolium castaneum)* أن الزيت العطري من *Mentha pulegium L* من الجزائر والمغرب تسبب في وفاة 100% بتركيز 20 ميكرو لتر / لتر من الهواء بعد 12 ساعة من التعرض. من ناحية أخرى، تسبب الزيت العطري من *Mentha pulegium L*. من تونس في وفيات بنسبة 100% بتركيز 586.2 ميكرو لتر / لتر من الهواء بعد 11 ساعة من التعرض.

يمكن اعتبار هذا العمل الواعد كنقطة انطلاق لتطبيقات هذا النبات العطري في مجالات الصحة، في قطاع الأغذية الزراعية أو قطاع الأدوية.

الكلمات المفتاحية: النعناع البري، الزيوت الأساسية، النشاط المضاد للأكسدة، المبيدات الحشرية، *T. castaneum*

Abstract

As part of the development of natural resources, we undertook a theoretical study on a plant widely used by North African populations, namely pennyroyal. This work primarily contributes to the knowledge of some antioxidant and insecticidal activities of the essential oil of *Mentha pulegium L* known since European antiquity as a medicinal plant belonging to the Labiæ family.

The extraction of the essential oil by hydro-distillation of the Clevenger type carried out on samples from Rabat (Morocco), Tlemcen and Laghouat in Algeria gave yields of 5.4%, 2.7% and 0.91% respectively.

GPC / MS analysis identified 21 compounds in the EO of *Mentha pulegium* from Tlemcen and Rabat regions and 26 compounds in that of Laghouat region including pulegone as the most abundant compound (77.3%, 40.98% and 76.9% respectively).

Evaluation of antioxidant activity by two chemical methods revealed remarkable anti-free radical and reducing capacities. Thus, the IC₅₀ results obtained by the DPPH test of the essential oil of mint indicates that the latter is able to inhibit the free radical DPPH with values of 29.24 mg / ml and 3.07 mg / ml for Tlemcen and Laghouat respectively.

In addition, the EC₅₀ obtained by the FRAP test are 39.4 mg / ml and 5.31 mg / ml for essential oil from Tlemcen and Laghouat in Algeria and 0.0857 mg / ml for Rabat (Morocco).

The study of the insecticidal activity of the Royal Penny (*Tribolium castaneum*) showed that the essential oil of *Mentha pulegium L.* from Algeria and Morocco caused 100% mortality at a concentration of 20 µl / l of air after 12 hours of exposure. On the other hand, the essential oil of *Mentha pulegium L.* from Tunisia caused 100% mortality at a concentration of 586.2 µl / l of air after 11 hours of exposure.

This very promising work can be considered as a starting point for applications of this aromatic plant in the fields of health, in the agrifood or pharmaceutical sector.

Key words: *Mentha pulegium L.*, essential oils, antioxidant activity, insecticidal activity, *T. Castaneurm.*

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Paramètres physico-chimiques de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> .	4
2	Composition chimique de l'HE de <i>Mentha pulegium</i> .	18
3	Les activités biologiques des composés majeurs des huiles essentielles.	19
4	les stations de récolte de <i>Mentha pulegium</i> utilisée pour les résultats du Taux d'humidité.	30
5	Les stations de récolte de <i>Mentha pulegium</i> utilisée pour les résultats de rendement et l'activité antioxydante.	32
6	Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> des régions Tlemcen, Laghouat et de Rabat.	33
7	Valeurs des paramètres antioxydant d'HE de <i>Mentha pulegium</i> obtenues par le test de DPPH.	36
8	Valeurs de la CE 50 de l'HE de <i>Mentha pulegium</i> par le test de FRAP.	37
9	Les stations de récolte de <i>Mentha pulegium</i> utilisée pour les résultats de l'activité insecticide.	38

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Exemple d'HE issues de différentes parties de plantes.	4
2	Structure chimique d'isoprène (C ₅ H ₈)n.	5
3	Schéma du principe de la technique d'hydro-distillation.	9
4	Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau.	9
5	principe schématisé de différentes étapes d'hydro diffusion.	10
6	Schéma du principe de la technique d'extraction à froid.	11
7	Appareillage de la chromatographie en phase gazeuse (CPG).	12
8	Principe de la spectrophotométrie de masse (SM).	12
9	Schéma d'un couplage chromatographie à tube capillaire à un spectromètre de masse.	13
10	photo de <i>Mentha pulegium</i> .	15
11	Aire de répartition des menthes dans le monde.	17
12	Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.	20
13	Mode d'action fongique des huiles essentielles.	20
14	Les principales sources des radicaux libres.	21
15	Montage d'un Hydro distillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle (photos originales).	25
16	Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydante.	27
17	Représentation de taux d'humidité des HEs d' <i>Mentha pulegium</i> dans différents régions.	31
18	Représentation des rendements des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium</i> .	32
19	évaluation de pouvoir antioxydante de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> des différentes régions.	36
20	Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> de Maroc.	38

Liste des figures

21	Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> de Tunisie.	38
22	Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de <i>Mentha pulegium</i> d'Algérie.	39

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

CPG : Chromatographie en phase gazeuse

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle

ERO : Espèce réactive oxygénée

HE: Huile essentielle

ISO: International Standard Organization

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

SM : Spectrométrie de Masse

PI: Pourcentage d'inhibition

CE 50 : Concentration Efficace à 50%

UV : Ultra-Violet

Ia : indice d'acide

Is : indice de saponification

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

Cl : clore

I : iode

T : Température

M.P : *Mentha pulegium*

p/v : Poids/Volume

Table de matière

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

I. Introduction 1

II. Analyses bibliographiques

II.1. Les huiles essentielles

II.1.1. Généralité sur les huiles essentielles	3
II.1.1.1. Définition	3
II.1.1.2. Répartition botanique	3
II.1.1.3. Localisation et lieu de synthèse	3
II.1.1.4. Caractéristiques et Propriétés physico-chimiques	4
II.1.1.5. Rôle des huiles essentielles chez les plantes	4
II.1.1.6. Composition chimique	5
II. 1.1.6.1. Les terpènes	5
II. 1.1.6.2. Les composés aromatiques.	5
II.1.1.6.3. Les composés d'origine divers	6
II.1.1.6.4. Notion chémotype	6
II.1.1.7. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles	6
II.1.1.7.1. Les facteurs intrinsèques	6
II.1.1.7.2. Les facteurs extrinsèques	6
II.1.1.8. Domaines d'applications	7
II.1.1.8.1 Agriculture	7
II.1.1.8.2. Industrie agroalimentaire	7
II.1.1.8.3. Pharmacologie	7
II.1.1.8.4. Aromathérapie	7
II.1.1.8.5. Cosmétique et parfumerie	7
II.1.1.9. Toxicité des huiles essentielles	8
II.1.1.10. Techniques d'extraction des huiles essentielles	8
II.1.1.10.1. Distillation	8
II.1.1.10.1.1. Hydro distillation	8
II.1.1.10.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau	9

Table de matière

II.1.1.10.1.3. Hydro diffusion	10
II.1.1.10.1.4. L'extraction à froid	10
II.1.1.10.1.5. Extraction par solvant organique volatil	10
II.1.1.10.1.6. Enfleurage	10
II.1.1.10.1.7. Extraction par micro-ondes	11
II.1.1.10.1.8. Extraction par fluide à l'état supercritique	11
II.1.1.11. Méthodes d'analyse des huiles essentielles	11
II.1.1.11.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou CG)	11
II.1.1.11.2. La spectrométrie de masse SM	12
II.1.1.11.3. Couplage CPG/SM	13
II.2. L'espèce végétale étudiée	
II.2.1 La famille des labiées	14
II.2.1.1. Le genre	14
II.2.1.2. L'espèce <i>Mentha pulegium</i>	14
II.2.1.2.1. Description morphologique	15
II.2.1.2.2. Principales caractéristiques botaniques	15
II.2.1.2.2.1. Feuilles	15
II.2.1.2.2.2. Fleurs	15
II.2.1.2.2.3. Fruits	15
II.2.1.2.3. Taxonomie	16
II.2.1.2.4. Les noms vernaculaires	16
II.2.1.2.5. Habitat et origine	16
II.2.1.2.6. Répartition géographique.	17
II.2.1.2.6.1 Dans le monde.	17
II.2.1.2.6.2 En l'Algérie	17
II.2.1.2.7. Composition chimique	17
II.2.1.2.8. Propriétés et usage	18
II.3. Activités biologiques des huiles essentielles	
II.3.1. Généralité	19
II.3.2. Activité antimicrobienne	19
II.3.2.1. Activité anti bactérienne	20
II.3.2.2. Activité anti fongique	20
II.3.3. Activité antivirale	21

Table de matière

II.3.4. Activité antioxydante	21
II.3.4.1. Le stress oxydatif	21
II.3.4.2. Les radicaux libres	21
II.3.4.3. Conséquences de stress oxydatif	22
II.3.4.4. Les antioxydants	22
II.3.4.5. Mécanismes d'action des antioxydants	22
II.3.5. Activité insecticide	23
III. Matériel et méthodes	
III.1. Matériel végétale	24
III.1.1. mode de conservation	24
III.1.2. Taux d'humidité	24
III.2. L'huile essentielle	24
III.2.1. Extraction par hydro distillation	24
III.2.2. Calcul du rendement	25
III.3. Caractérisation de l'huile essentielle par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG -SM)	26
III.3.1. Identification des composés chimiques	26
III.4. Activités biologiques des huiles essentielles	26
III.4.1. Activité anti-oxydante	26
III.4.1.1. Test de DPPH	27
III.4.1.2. Test de FRAP	28
III.4.2. Activité insecticide	29
III.4.2.1. Matériel animale	29
IV. Résultats et discussion	
IV.1. Taux d'humidité	30
IV.1.1. Lieu de récolte	30
IV.2. Extraction de l'huile essentielle	32
IV.2.1. Lieu de récolte	32
IV.2.2. Rendement en huile essentielle	32
IV.3. Caractérisation de l'huile essentielle par Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG -SM)	33
IV.4. Activités biologiques	35
IV.4.1. Etude de l'activité anti-oxydante	35

Table de matière

IV.4.1.1. Test de DPPH	35
IV.4.1.2. Test de FRAP	37
IV.4.2. L'évaluation de la toxicité de Mentha pulegium sur T.Castaneum	38
IV.4.2.1. Lieu de récolte	38
V. Conclusion	41
VI. Références bibliographiques	43

INTRODUCTION

I. Introduction

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement de l'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles. Environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (**EL Rhaffari et Zaid, 2004**).

En effet, les plantes possèdent des milliers de substances actives à l'intérieur de leurs organes (feuilles, fleurs, racines,...) et peuvent selon des techniques chimiques (extraction, distillation,...), permettre l'isolation du principe actif.

A l'heure actuelle, plus de 25% des substances naturelles commercialisées dans les pays développés dérivent des plantes (**Newman et al., 2003**).

Cependant, l'Algérie possède d'importantes potentialités en matière de plantes médicinales et aromatiques en raison de la flore spontanée, qui est particulièrement riche en plantes utiles telles que l'ortie, le thym, la menthe... etc. Elle est estimée à environ 250 000 espèces réparties dans les régions côtières, les massifs montagneux, les hauts-plateaux, la steppe et les oasis sahariennes ceci est lié principalement à la diversité de son climat et à la nature de ses sols (**Benbouali, 2006**).

Parmi ces ressources naturelles les plantes aromatiques et médicinales sont à l'origine d'une autre richesse due à leurs huiles essentielles, leur production mondiale a récemment été estimée à plus de 110 000 tonnes parmi les 150 huiles essentielles les plus couramment commercialisées (**Duraffourd et al., 1997**).

Du à leur effets secondaires et à la méfiance accrue suscitée par l'usage des produits chimiques, la recherche actuelle s'oriente donc, vers l'exploitation des substances naturelles et parmi lesquelles figurent les huiles essentiels, Celles-ci sont bien connues pour leur propriétés antiseptiques, c'est-à-dire bactéricides, virucides, fongicides et pour leur propriétés pharmacologiques : activité antimicrobienne, anti-inflammatoire et anesthésique locale. Elles occupent une large place et jouent un grand rôle dans l'économie nationale considérable en raison de leur applicabilité dans des domaines variés tel que l'industrie agroalimentaire (additifs, colorants, arômes, agents de conservation), conserverie et Phytothérapie. Malheureusement l'exploitation et la valorisation de ces ressources naturelles reste très limitée et très artisanale (**bouhaddouda, 2016**).

Ces remèdes naturels sont bien souvent très efficaces avec moins d'effets secondaires reconnus que beaucoup de médicaments de synthèse, mais peuvent néanmoins être mortels ou toxiques pour l'organisme lorsqu'ils sont mal utilisés (**Duraffourd et al., 1997**).

Toutefois, l'évaluation des propriétés phyto-thérapeutiques comme antioxydantes et insecticides demeure une tâche très intéressante et utile en particulier pour les plantes d'une utilisation fréquente ou connues dans la médecine. Pour cela notre travail s'intéresse de très près aux activités insecticides et antioxydantes dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des produits naturels.

Le présent travail rentre dans le vaste cadre de la recherche de nouvelles substances naturelles extraites du règne végétal, et l'étude de leurs activités antioxydantes et insecticides. C'est dans cette optique que notre étude a été divisée en trois parties :

- La première partie, est une synthèse bibliographique qui résume les principales caractéristiques de l'espèce étudiée ainsi que des généralités sur les huiles essentielles et leurs activités biologiques.
- La deuxième partie du travail est expérimentale, elle concerne les méthodes utilisées dans :
 - ✓ L'extraction de l'huile essentielle par la méthode d'hydro distillation et la détermination du rendement ;
 - ✓ L'évaluation in vitro de l'effet antioxydante de l'HE de *Mentha pulegium* selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH et la méthode de FRAP ;
 - ✓ L'évaluation du pouvoir insecticide de l'huile essentielle vis-à-vis de *Tribolium castaneum*.
- La troisième partie concerne la discussion des résultats obtenus de l'étude de l'activité antioxydante et insecticide des huiles essentielles de *Mentha pulegium*. Notre travail a été achevé par une conclusion et des perspectives.

ANALYSES

BIBLIOGRAPHIQUES

I. Analyses bibliographiques

II.1. Les huiles essentielles :

II.1.1. Généralité sur les huiles essentielles :

Connues des antiquités et aujourd'hui scientifiquement reconnues, les HES sont des extraits purs provenant d'une sécrétion naturelle élaborée par certaines plantes pour se protéger des prédateurs et également pour attirer les insectes pollinisateurs, parmi les 1 500 000 espèces végétales, 10 % seulement sont dites aromatiques (**Ferkous, 2016**).

II.1.1.1. Définition :

Selon la norme AFNOR NF'T 75-006, « l'huile essentielle désigne le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe, soit par distillation sèche. Elle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (**AFNOR, 2000**).

II.1.1.2. Répartition botanique :

Selon Bruneton (1999), les HES n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs, (**Degryse et al., 2008**). Il y aurait environ 17 500 espèces aromatiques réparties dans une cinquantaine de familles, telles les Lamiacées (thym, menthe.), les Apiacées (fenouil, cumin..) et les Myrtacées (myrthe, eucalyptus) Ces espèces sont caractérisées par la présence d'organes spécifiques responsables de la synthèse et du stockage des HES (**Baser et Buchbauer, 2010**).

II.1.1.3. Localisation et lieu de synthèse :

Les huiles essentielles se localisent dans toutes les parties vivantes de la plante (**Figure 1**) et se forment dans le cytoplasme de cellules sécrétrices variables. Puis, elles s'accumulent dans des cellules glandulaires spécialisées recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules à HES localisées sur ou à proximité de la surface de la plante (**Bendjelloul, 2018**).

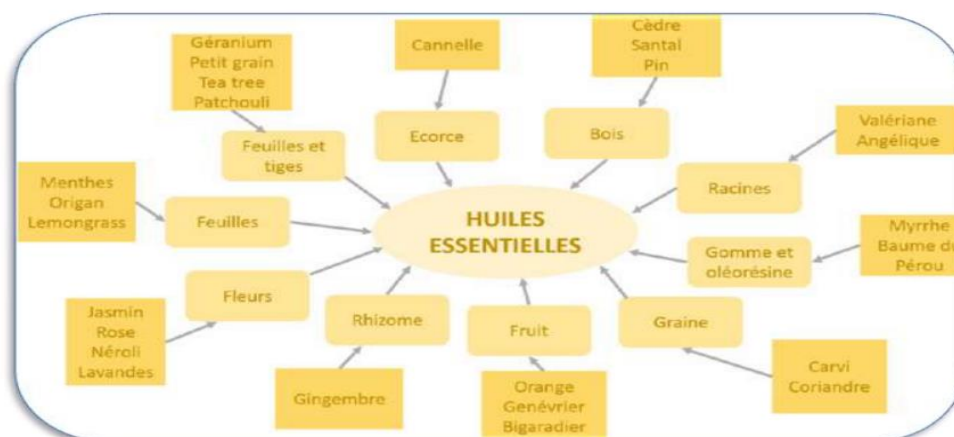


Figure 1 : Exemple d'HE issue de différentes parties de plante (Deschepper, 1990).

II.1.1.4. Caractéristiques et propriétés physicochimiques :

Les HES sont des liquides de couleur qui varie de l'incolore au brun clair, volatils à température ambiante avec un indice de réfraction élevé et une densité inférieure à celle de l'eau, neutres au tournesol, s'oxydent à la lumière, absorbent le Cl et le I avec dégagement de chaleur (Duraffourd et Lapraz, 2002). Leur point d'ébullition varie de 160° à 240° C, solubles dans les graisses et les solvants apolaires et organiques. (Duraffourd et Lapraz, 2002), se caractérisent par l'indice de : carbonyle, Ia, Is et indice d'ester (Tableu1) (Charpentier et al., 2008).

Tableau 1. Paramètres physico-chimiques de l'HE de *M. pulegium* (Abid et Mordjani, 2019).

Paramètre	Valeurs
Densité à 20°C	0.9379
Indice de réfraction	1.4805
Indice d'acide	69.88

II.1.1.5. Rôle des huiles essentielles chez les plantes :

Le rôle des HES dans la physiologie de la plante reste encore mal connu. Cependant, plusieurs effets utiles ont été décrits telles que la réduction de la compétition des autres espèces de plantes (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines. Ces HES favoriseraient également la pollinisation (Guignard, 2000), et jouent ainsi un rôle hormonal, régulateur et catalyseur dans le métabolisme végétal et constitue une ressource énergétique (Fouché, 2000).

L'utilité des HEs pour les plantes désertiques, a été rattachée à la conservation d'une humidité indispensable à la vie des plantes. Les vapeurs aromatiques ont pour propriétés de saturer l'air et la température autour de la plante (**Belaiche, 1979**).

II.1.1.6. Composition chimique :

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent, de façon quasi exclusive, à deux groupes : (**Mimouni, 2016**)

- le groupe de terpénoïdes.
- le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane.

II.1.1.6.1. Les terpènes :

Les terpènes sont des composés formés de l'assemblage de deux ou plusieurs unités isopréniques (2-méthylbuta-1,3-diène) (**figure 2**) (**Capon et al., 1993**). Dans les HEs, seuls seront rencontrés les terpènes les plus volatils dont :

- Les monoterpènes (composés en C_{10}) : ce sont des hydrocarbures volatils présents dans la quasi-totalité des HEs, ils peuvent être acycliques, monocyclique ou bicycliques) et ;
- Les sesquiterpènes (composés en C_{15}) : ils sont constitués de trois éléments isopréniques, disposés de façon à donner des structures monocyclique ou polycycliques (**Bruneton, 1999**).

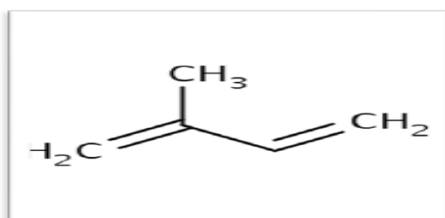


Figure 2 : Structure chimique d'isoprène (C_5H_8)n .

II.1.1.6.2. Les composés aromatiques :

Les dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les précédents, ce sont très souvent des allylphénols, anéthol, aisaldéhyde, apiol, eugénol, asarones, cinnamyl, cinnamaldéhyde, alcool etc... On peut également rencontrer dans les HEs des composés comme la vanilline ou comme l'authranilate de méthyle (**Bakkali et al., 2008**).

II.1.1.6.3. Les composés d'origine diverses :

Il existe un nombre négligeable de produits résultant de la transformation de molécules non volatiles issues soit de la dégradation des terpènes non volatils ou des acides gras. D'autres composés azotés ou soufrés peuvent subsister mais sont rares (**Piochon, 2008**).

II.1.1.6.4. Notion chémotype :

La composition chimique de l'HE de certaines plantes peut varier à l'intérieur d'une même espèce. En effet une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente en fonction du biotope dans lequel elle se développera (**Cosentino et al., 1999**). Ces variétés chimiques sont souvent appelées : chémotypes, types biogénétiques, races chimiques ou races biologiques. Parmi les nombreux constituants d'une HE, l'un domine généralement, on l'appelle composé majoritaire et ça sera lui qui définit le chémotype de cette huile (exemple : *Thymus* à thymol). Biochimiquement différents, deux chémotypes présenteront non seulement des activités thérapeutiques différentes mais aussi des toxicités très variables (**Pibiri, 2006**).

II.1.1.7. Facteurs de Variabilité de la composition des huiles essentielles :

La composition chimique en HEs varie suivant diverses conditions telles que l'environnement, le génotype et l'origine géographique. D'autres facteurs interviennent également tels que la période de récolte, le séchage, lieu de séchage, la contamination par des parasites, des virus et des mauvaises herbes et le choix de la méthode d'extraction (**Burt, 2004; Möller, 2008**).

II.1.1.7.1. Facteurs intrinsèques :

L'influence du stade végétatif, l'organe de la plante, les hybridations, les facteurs de mutation (**Garnero, 1991**) et le polymorphisme chimique 'formes physiologiques' (**Anton et Lobstein, 2005**) sont les principaux facteurs intrinsèques qui influencent la composition des HEs.

II.1.1.7.2. Facteurs extrinsèques :

Les conditions environnementales influencent aussi la composition des HEs. La température, la quantité de lumière, la pluviométrie et les conditions édaphiques représentent autant de causes potentielles de variations de la composition chimique d'une plante aromatique donnée (**Olle et Bender, 2010**). Les conditions culturales telles que la date de semis, la date de récolte, les traitements phytosanitaires, l'emploi d'engrais, ainsi que les techniques de récoltes influencent aussi la composition des HEs (**Barry, 2001**).

II.1.1.8. Domaines d'application:

Les domaines d'applications des HEs diffèrent selon la plante dont elles proviennent mais surtout de la structure végétale dont elles sont extraites (feuilles, fleurs, graines, etc.).

II.1.1.8.1. En Agriculture

La volonté de réduire l'utilisation des pesticides de synthèse dans l'agriculture en faveur de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, s'est affermie ces dernières années (**Isman, 2000**).

Dans ce contexte environnemental, les pesticides naturels basés notamment sur les HEs, représentent une alternative intéressante pour la protection des cultures contre les insectes mais également contre les adventices et les champignons. Les modes d'applications sont très variés soit par fumigation attractif ajoutée aux pièges à phéromones, répulsif ou par contact (**Regnault Roger et Hamraoui, 1995**).

II.1.1.8.2. Dans l'industrie Agro-alimentaire

Les HEs et leurs composants sont actuellement employés comme arômes alimentaires, également connus pour posséder des activités antimicrobiennes, elles pourraient donc servir d'agents de conservation d'additifs alimentaires (**Caillet et al., 2009**).

II.1.1.8.3. En pharmacologie

Face au problème soulevé depuis plusieurs années par la résistance des bactéries aux antibiotiques de synthèse, la seule alternative fiable à l'usage de ces derniers semble être celle des HEs. Connue de façon empirique depuis des siècles, leur efficacité anti-infectieuse a été scientifiquement démontrée *in vitro* et *in vivo* (**Zhiri, 2006**).

II.1.1.8.4. En aromathérapie

Utilisées pour leurs propriétés observées dans la nature, (pouvoir antifongique, insecticide, antioxydant et antimicrobien), les HEs peuvent être mélangées avec de l'huile végétale pour en fabriquer des produits fréquemment utilisés en aromathérapie (**Bakkali et al., 2007**).

II.1.1.8.5. En cosmétique et parfumerie

Les HEs sont utilisées pour leur saveur et odeur en industrie des produits naturels et en industrie des parfums (l'huile de rose, huile d'eucalyptus..), dans les cosmétiques et produits de toilette, dans des lotions de soins corporels, soins capillaires, soins de la peau et produits de soins buccaux, et dans les parfumeries et les parfums (**Smallfield, 2001**).

II.1.1.9. Toxicité des huiles essentielles :

Les études scientifiques montrent que les HEs peuvent présenter une certaine toxicité. Il faut cependant remarquer que celle-ci varie selon la voie d'exposition et la dose prise.

Les HEs semblent n'être toxiques par ingestion ou par contact que si celles-ci sont appliquées en concentrations importantes et en dehors du cadre classique d'utilisation (**Degryse et al., 2008**). Certaines d'entre elles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant, allergène ou photo-toxique, d'autres ont un effet neurotoxique (**Guinoiseau, 2010**).

II.1.1.10. Techniques d'extraction :

Il existe plusieurs méthodes d'extraction des HEs. Le choix de la méthode la mieux adaptée se fait en fonction de la nature de la matière végétale à traiter, des caractéristiques physico-chimiques de l'essence à extraire, de l'usage de l'extrait et l'arôme du départ au cours de l'extraction (**Abou et Farah, 2017**). Les principales méthodes d'extraction sont :

II.1.1.10.1. Distillation :

C'est une technique de séparation qui se base sur la différence de densité entre un liquide et la vapeur engendrée. Elle implique la condensation de la vapeur et la récupération des fractions liquides résultantes. Il existe en effet deux différents procédés utilisant ce principe : l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydro distillation. (**Garnero, 1996**).

II.1.1.10.1.1. Extraction de l'huile essentielle par Hydro distillation

L'hydro distillation est assurée grâce un hydro distillateur de type Clevenger (**figure 3**). Cela consiste à introduire 100 g de matériel végétal dans un ballon de 2 litres contenant de l'eau distillée. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 3H à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'HE, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. L'huile obtenue est conservée à 4°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage. (**Jouault, 2012 ; Lucchesi, 2005**).

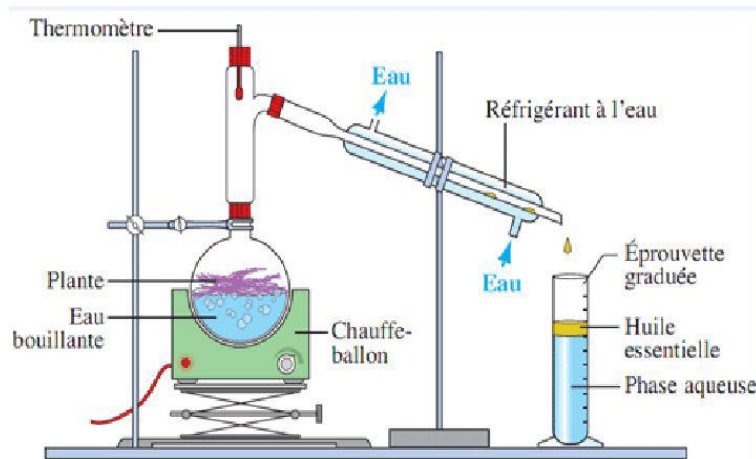


Figure 3 : Schéma du principe de la technique d'hydro distillation (Lucchesi, 2005)

II.1.1.10.1.2. Entraînement à la vapeur d'eau

Le montage (**Figure 4**) comprend trois cuves reliées entre elles par des tubes, la première reçoit de l'eau et la seconde les plantes. L'eau est doucement chauffée et la vapeur passe dans la cuve contenant les plantes. La vapeur circule à travers les plantes et se charge de principes actifs formant ainsi un mélange gazeux homogène, celui-ci s'échappe par un long tuyau fin qui baigne dans un récipient d'eau froide (Lakhdar, 2015). La vapeur, ainsi refroidie, se condense en gouttelettes dont le liquide final arrive dans la troisième cuve. L'HE étant plus légère que l'eau, il suffit de la récupérer en surface, (Masso, 2007 ; Lucchesi, 2005).

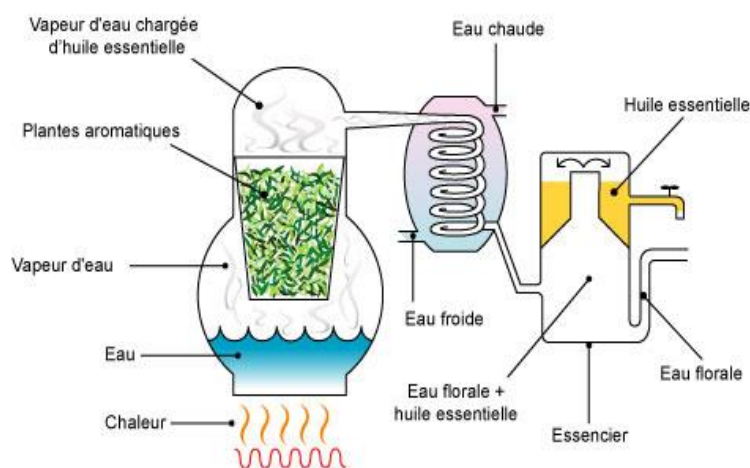


Figure 4 : Schéma du principe de la technique de l'entraînement à la vapeur d'eau (Lucchesi, 2005).

II.1.1.10.1.3. Hydro-diffusion

Consiste à pulser de la vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétale, de haut vers le bas. Ce procédé permet un gain de temps et d'énergie (**Bruneton, 1999**).

Le principe de cette méthode réside dans l'utilisation de la pesanteur pour dégager et condenser le mélange « vapeur d'eau-huile essentielle » dispersé dans la matière végétale (**Franchomme et al., 1990**) (**Figure 5**).

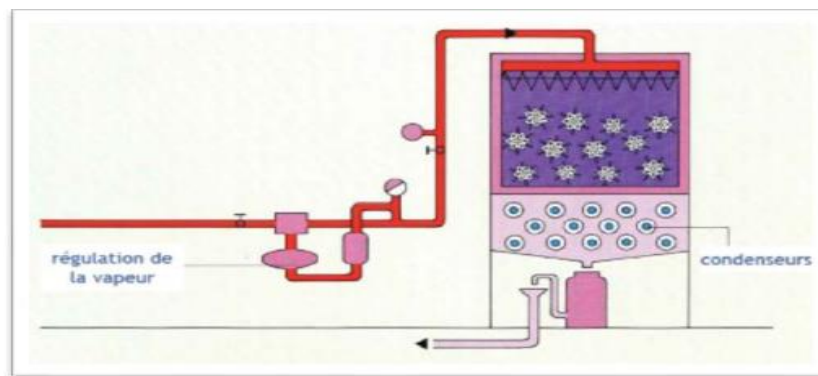


Figure 5 : Principe schématisé de différentes étapes d'hydro diffusion (**Bechiri et Mezedek, 2018**).

II.1.1.10.1.4. L'extraction à froid

Elle est souvent utilisée pour extraire les HEs des agrumes comme le citron, la mandarine, etc. Son principe consiste à rompre mécaniquement les poches à essences. L'HE est séparé par décantation ou centrifugation et recueillie directement, ce qui évite les dégradations liées à l'action de l'eau (**Chaintreau, 2003**).

II.1.1.10.1.5. L'extraction par solvant organique volatil

Elle est basée sur l'épuisement de la plante de ses constituants odorants au moyen d'un solvant sélectif, le solvant chargé est récupéré par évaporation sous vide, pour éviter la dégradation thermique des molécules odorantes. Le choix du solvant est influencé par des paramètres techniques et économiques (sélectivité, inertie chimique..) (**Bengacemi, 2005**).

II.1.1.10.1.6. Enfleurage

Une technique consiste à déposer les plantes en particulier les organes très fragiles (fleurs d'oranger, de jasmin, pétales de rose, ...) qui ne supportent pas la chaleur entraînée par la distillation, sur une couche de graisse animale qui se sature en essence. On épuise ensuite le corps gras par l'alcool qui récupère les senteurs et qui sera ensuite évaporé sous vide (**France-Ida, 1996**). Ce procédé dure plusieurs jours le temps que l'huile essentielle soit absorbée par la graisse.

II.1.1.10.1.7. Extraction par micro-ondes

Le procédé d'extraction consiste à extraire l'HE à l'aide d'un rayonnement micro-ondes d'énergie constante et d'une séquence de mise sous vide. Ce procédé est basé sur l'absorption de l'énergie de micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par une constante diélectrique (**Figure 6**)(**Bendjelloul, 2018**).

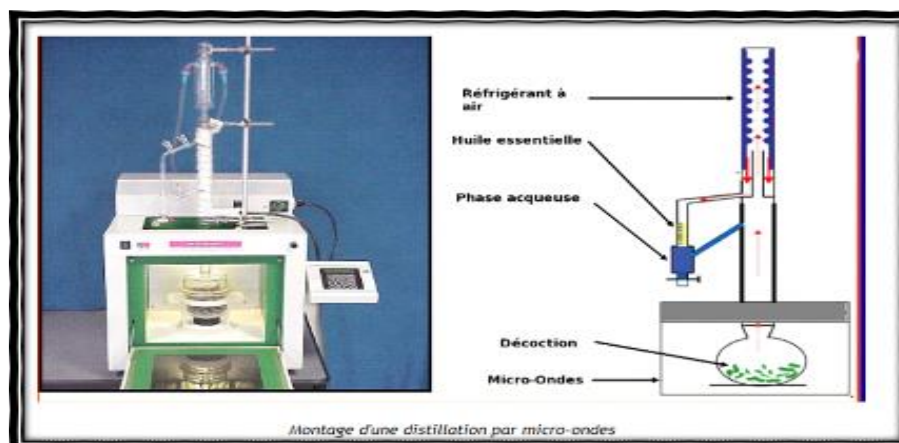


Figure 6 : Schéma du principe de la technique d'extraction à froid (**Lucchesi, 2005**).

II.1.1.10.1.8. Extraction par les fluides l'état supercritiques

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé, il s'agit de CO₂ à l'état supercritique (à T= 31°C et P = 73bars), dont possède un bon pouvoir d'extraction. Dans ce système, le solvant est utilisé en boucle par interposition d'échangeurs de chaleur, d'un compresseur et d'un détendeur afin de porter le solvant à l'état désiré à chaque stade du processus. La séparation de l'extrait a lieu en phase gazeuse par simple détente. L'avantage de cette méthode est la possibilité d'éliminer et de recycler le solvant (**Pellerin, 1991**).

II.1.1.11. Méthodes d'analyses des huiles essentielles :

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 (**Moldovan et Oprean, 2014**).

II.1.1.11.1. La chromatographie en phase gazeuse (CPG ou CG)

La CPG est une méthode de séparation et d'analyse, appliquée au gaz et aux composés liquides ou solides à l'état vapeur. Elle est préférentiellement utilisée dans le cas des molécules volatiles comme celles présentes dans les HEs (**Sutour, 2011**).

L'analyse débute à l'instant où on introduit une très petite quantité de l'échantillon (de 1 à 10 µl), sous forme liquide ou gazeux, dans l'injecteur (**Rouessac et Rouessac, 2009**). Les solutés à l'état gazeux sont transportés par le gaz vecteur le long de la colonne où ils se solubilisent dans la phase stationnaire liquide. Les constituants du mélange sortent l'un après

l'autre du fait de leur différence de déplacement dans la colonne. A la sortie de la colonne, se trouve un détecteur qui émet un signal chaque fois qu'un soluté sort. Ce signal est amplifié, reproduit sur l'enregistreur et évalué à l'aide d'un ordinateur (**Figure 7**). L'identification des constituants peut être réalisée par la comparaison des indices de rétention de Kovats (**Tranchant et al., 1995**).

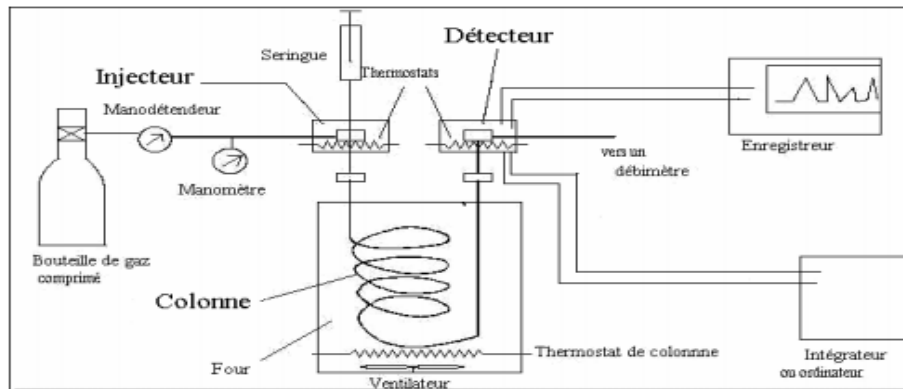


Figure 7: Appareillage de la chromatographie en phase gazeuse (CPG)(**benazzouz ,2012**).

II.1.1.11.2. La spectrométrie de masse (SM) :

Le spectromètre de masse permet l'identification et la quantification des composés, la source est la partie du spectromètre de masse où sont produits des ions gazeux à partir des molécules introduites en couplage avec le chromatographe en phase gazeuse, où les composés sont élués arrivent au spectromètre à l'état gazeux, La source est maintenue à une T° élevée (100 à 250°C) pour éviter la condensation des substances (**Figure 8**) (**bouchonnet et Libong, 2002**).

Les ions sont ensuite dirigés vers la partie analytique de l'appareil. Le faisceau d'ions ayant traversé l'analyseur de masse est détecté et transformé en un signal utilisable (**Besombes, 2008**).

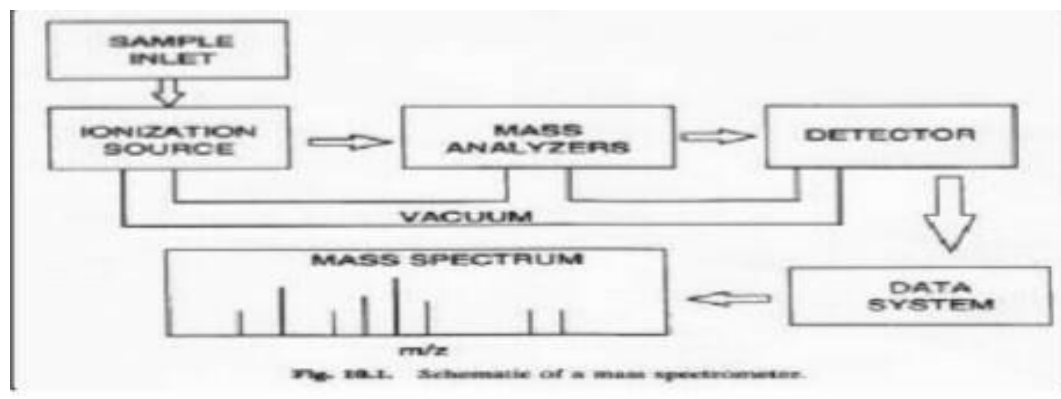


Figure 8: Principe de la spectrophotométrie de masse (**Mc Nair et Miller, 1997**).

II.1.1.11.3. Couplage CPG/SM :

Cette méthode de couplage consiste à transférer par le gaz vecteur les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur rapport masse/charge (**Figure 9**). L'identification des composants est réalisée par la comparaison des spectres de masse obtenus avec ceux connus en bibliothèque informatique (**Sarikurkcu et al., 2012**).

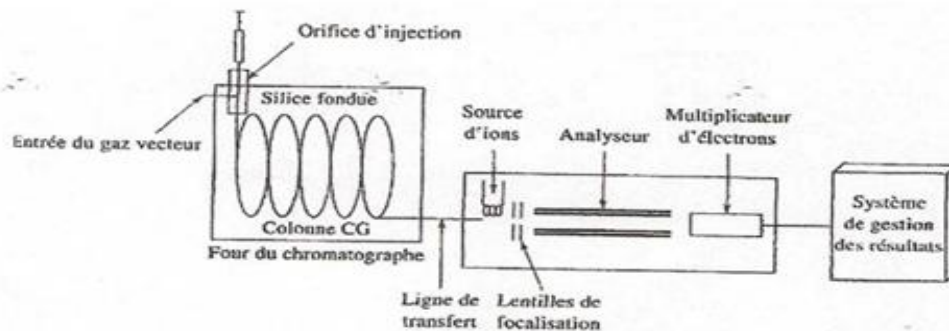


Figure 9 : Schéma d'un couplage chromatographie à tube capillaire à un spectromètre de masse
(Douglas et al., 2003).

II.2. Espèce végétale étudiée :

II.2.1 La famille des labiées :

Les Labiées (*Lamiaceae*) constituent une vaste famille (3500 espèces environ en 200 genres), des angiospermes dicotylédones à fleurs gamopétales irrégulières, qui regroupent surtout les plantes herbacées et sous-arbustives (**Abdel, 2003**). Répartie dans le monde entier, mais avec une prépondérance pour les régions méditerranéennes dont 146 espèces en Algérie elles sont rares dans les régions arctiques et en hautes montagnes, elles sont caractérisées par :

- Une tige a 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; ovaire à quatre loges, chacune un ovule (**Benbouali, 2006**).

II.2.1.1. Le genre :

Parmi toutes les labiées, les menthes sont des plantes peu exigeantes et se répandent rapidement, faciles à reconnaître grâce à leur odeur tout à fait caractéristique, elles sont très complexe en raison des nombreuses hybridations entre espèces, aboutissant à de nombreuses sous-espèces (**Benayad, 2008**). Il y a plus d'une quarantaine de variétés représenté par 18 espèces. Certaines espèces sont cultivées, d'autres poussent à l'état sauvage, les plus intéressantes : (*M. pulegium* , *M. rotundifol* , *Mentha x piperita* et *Mentha spicata*) poussent spontanément en Algérie (**Addadi et Ferradji, 2014**).

II.2.1. 2. L'espèce *Mentha pulegium* :

Le nom de *pulegium* vient du latin de pulex, la puce car la plante a la propriété d'éloigner les puces car elle a aussi la particularité d'être insecticide (**Bekhechi, 2008**).

La menthe pouliot est une plante vivace aromatique, fertile. Les organes d'élaboration de l'HE de cette plante sont les cellules épidermiques des feuilles et des fleurs qui évoluent en glande sécrétrice où s'accumule l'huile (**Hubert, 2011**). Elle est toxique à forte dose et peut provoquer l'avortement. Sa saveur est fortement aromatique et son odeur est intense. *M. pulegium*, très répandue dans l'aire méditerranéenne, Elle est fréquente dans les milieux humides et elle est parfois cultivée comme plante condimentaire pour ses feuilles très aromatiques (**Lahrech, 2010**).

II.2.1.2.1. Description morphologique

Mentha pulegium L. est une plante vivace, herbacées indigènes. Elle peut atteindre jusqu'à 15- 40cm de large et de 10 à 30cm de hauteur (Botineau, 2010), à tiges dressées, ramifiée, quadrangulaire et rougeâtre, d'une hauteur de 30 jusqu'à 40mm (Figure 10) (Dorman et al., 2003).

Les parties aériennes de la plante sont pubescentes portant trichomes glandulaires qui sont responsables de la sécrétion d'HE (Bechiri et Tahar Mezedek, 2018).

II.2.1.2.2. Principales caractéristiques botaniques : (Figure 10)

II.2.1.2.2.1. Feuilles

Les feuilles, opposées, petites et décussées, sont ovales, oblongues, obtuses, subaiguës ou presque entières (légèrement dentelées ou crénelées) et munies d'un court pétiole, avec les florales plus courtes que les glomérules et une longueur de 15 à 25mm prunelées sur les bords.

II.2.1.2.2.2. Fleurs

Les fleurs, qui apparaissent l'été, de Mai à fin Septembre, sont rose lilas, parfois blanches, de 4,5 à 6 mm de long. Chaque inflorescence, en cyme, est axillaire par une bractée foliacée. Elle englobe jusqu'à 30 fleurs. Deux pré feuillent, réduites, naissent à la base de chaque inflorescence. La corolle est gamopétale formée de cinq pétales soudées.

II.2.1.2.2.3. Fruits

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 (Quezel et Santa, 1963).



Figure 10 : *Mentha pulegium*

II.2.1.2.3. Taxonomie :

D'après Quézel et Santa, (1963) et Guignard et Dupont, (2004), la classification systématique de *Mentha pulegium* est la suivante :

<i>Règne</i>	<i>Végétal</i>
Embranchement	<i>Spermatophytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe :	<i>Dicotylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Labiacées</i>
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce :	<i>Pulegium</i>

II.2.1.2.4. Les noms vernaculaires :

Mentha pulegium appelée :

Arabe :	محليا تعرف باسم "فليو" او الفودنج أو النعناع الأوروبي أو النعناع البري لغيره الفليّة أو البليّة أو البيطل أو البري
Français :	pouliot, pouliot royal, herbe aux puces, chasse puce, herbe de Saint Laurent ou frétille.
Anglais :	<i>Pennyroyal</i>
Latin :	<i>Mentha pulegium L.</i>
Targui ou berbère :	Afilgou , Felgou , Moussal , Tem

II.2.1.2.5. Habitat et origine :

Cette espèce sauvage pousse dans les zones humides et généralement marécageuses, près des routes, et elle est plus abondante dans les pâturages de montagnes (Chalchat et al., 2000). Elle pousse dans des montagnes jusqu'à 2200 mètres d'altitude. Elle pousse sur des sols sablonneux, et acides, mais est très sensible au gel (Quézel et Santa, 1963).

II.2.1.2.6. Répartition géographique :

II.2.1.2.6.1. Dans le monde :

Au départ, elle était d'origine méditerranéenne. Aujourd'hui, cette espèce spontanée est répandue aussi en Europe, aux canaries et en l'Asie. Elles se sont diffusées sur tout le globe jusqu'en Amérique du nord, en Australie, et aussi au Japon suivant les flux de migration (Figure 11) (Anton, 2005).



Figure 11 : Aire de répartition des menthes dans le monde (Taalbi, 2016).

II.2.1.2.6.2. En Algérie :

En Algérie, Il existe de nombreuses espèces de Menthe sauvages telle *Mentha Pulegium L.* qui est très abondante et pousse spontanément (Quézel et Santa, 1963). Elle est commune sur l'ensemble de la région de l'Est Algérien plus particulièrement à Bouira, Djelfa, Ain Defla et Bordj Bou Arreridj, et dans l'Ouest à Tlemcen, Ain Tmouchent et Rélizane .On la rencontre notamment sur les littorales dans les régions de Annaba et Mostaganem, sur les côtes de Barbarie dans la région de Oued Nouaguenoun de la Wilaya de Tizi Ouzou, et ainsi au sud du massif de l'Atlas à Laghouat.

II.2.1.2.7. Composition chimique :

La menthe pouliot contient de l'HE. 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 et de menthol de limonène lévogyre, de dépentène (Tableau 2) La menthe pouliot contient également du tanin, des matières cellulosiques et pectiques, des sucres etc.... (Beloued, 2001).

Tableau 2. Composition chimique de l'HE de *Mentha pulegium* (Guy, 2005).

Hydrocarbures terpéniques		Alcools	
β-phellandréne	trace à 2%	Néomenthol	0 à 1,5%
Limonène	0,4 à 1 %	A-terpinéol	0 à 1,4%
Cétone		Ester	
Menthone	0,1 à 30,8%	Acétate de néoisomenthyle	0 à 2,5 %
Iso-menthone	1,9 à 25,4 %	Acétate de menthyle	/
Pipéritone	0,4 à 87%	Autres composés	
Pulégone	36 à 74,4 %	Menthofurane	0 à 0,8%
Pipériténone	0 à 2,5 %	Acétate de linalyle	/

II.2.1.2.8. Propriétés et usage :

Comme toutes les autres espèces de menthe employées en médecine 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, et elle est utilisée pour chauffer l'estomac (Taalbi, 2016).

L'HE de la menthe pouliot est utilisée traditionnellement en phytothérapie pour aider à la digestion et à soulager la dyspepsie flatulente, Inflammations aiguës des muqueuses, calme la toux et utilisée pour la sphère respiratoire contre les bronchites, les rhumes..etc

Elle est également utilisée pour provoquer les règles ou pour soulager les règles douloureuses (Beghidja *et al.*, 2007).

II.3 Les activités biologiques des huiles essentielles

II.3.1. Généralité

Les vertus des HEs sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles et des applications sans bases scientifiques précises.

L'activité biologique d'une HE est liée à sa composition chimique, aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) et à leurs effets synergiques (**tableau 3**) (**Dorman et al., 2000**).

Tableau 3 : Les activités biologiques des composés majeurs des HEs (**Mebareki, 2010**).

Famille	Activité biologique
Hydrocarbures aliphatique Monoterpène	Fongistatique, bactériostatique, insecticide, herbicide, stimulation générale.
Sesquiterpène	Calmant, anti-inflammatoire, antiallergique, antibactérienne et antifongique.
Phénols	Antioxydant, stimulant, tonique, antiseptique, bactéricides, fongicides, antivirale, irritants, antiparasitaire.
Alcool monoterpénique	, anti-inflammatoire, antiseptique, bactéricides, fongicides, antivirale, immunostimulants, neurotonique
Alcool sesquiterpénique	Tonique et stimulants généraux, décongestionnants veineux et lymphatique
Cétone	Calmant, antivirale, antifongique, neurotoxiques, dépresseurs à doses élevées

II.3.2. Activité antimicrobienne :

Les HEs des plantes aromatiques ont été considéré comme agents antimicrobiens les plus efficaces. Leur spectre d'action est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques (**Oussou et al., 2009**).

Cette activité est par ailleurs variable d'une HE à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Avlessi et al., 2012**). Elles peuvent être bactéricides ou bactériostatiques. Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique, et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Sipailiene et al., 2006**).

II.3.2.1. Activité antibactérienne :

Le mécanisme d'action agit sur la rupture de la membrane par les composés lipophiles. D'une manière générale, il se déroule en trois phases : **(Figure 12)**

- ✓ Attaque de la paroi bactérienne par l'HE, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- ✓ Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- ✓ Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie **(Cowan, 1999)**.

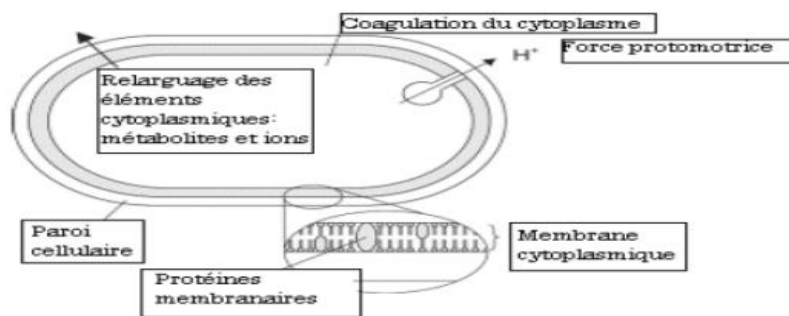


Figure 12 : Sites d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne **(Burt, 2004)**.

II.3.2.2. Activité antifongique :

Selon **(Voukou et al., 1988)**, les HEs les plus étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antifongiques appartiennent à la famille des Labiées : thym, menthe....etc.

Les HEs agissent sur un large spectre de moisissure et de levure en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, l'élongation du mycélium, la sporulation et la production de toxines chez les moisissures **(Ouibrahim, 2014)**. L'action antifongique **(figure 13)** des composées des HEs est due à une augmentation de la perméabilité de la membrane plasmique, suivie d'une rupture provoquant la mort de la levure **(Cox S. et al., 2000)**.

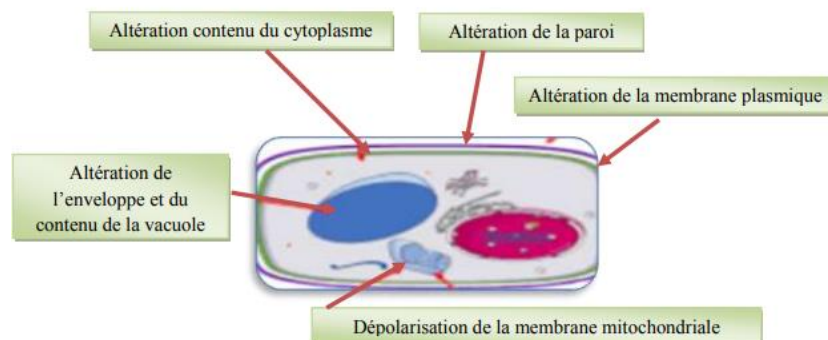


Figure 13 : Mode d'action fongique des huiles essentielles **(Bouras et Hachemi, 2018)**.

II.3.3. Activité antivirale :

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques et certaines infections virales graves peuvent montrer une grande amélioration par la phytothérapie (Hayashi *et al.*, 1994). La synergie entre les composés d'huile tels que la cinéole-monoterpénol a été utilisée pour traiter des infections virales des voies respiratoires ; les cétones et composés cryptones ont montré une capacité de lutte contre les virus nus. Certaines huiles interfèrent avec la glycoprotéine de surface dans l'enveloppe virale, empêchant ainsi l'attachement du virus avec la cellule hôte (Belaiche, 1979).

II.3.4. Activité anti-radicalaire et antioxydante :

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont le β -carotène, l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol, la quercétine, la rutine et le picnogénol. La plupart des antioxydants de synthèse ou d'origine naturel 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 ($\text{OH}\cdot$) et superoxydes ($\text{O}_2\cdot$), et ainsi étroitement liée au contenu phénol (Burda et Oleszek, 2001; Antolovich *et al.*, 2002 ; Bartosz, 2003).

II.3.4.1. Le stress oxydatif

Est défini comme étant le déséquilibre entre la génération (ERO) et la capacité du corps à neutraliser et à réparer les dommages oxydatifs (Boyd *et al.*, 2003).

II.3.4.2. Les radicaux libres

C'est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, donc très réactifs et par conséquent, leur durée de vie est très courte, ce composé réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron (Figure 14) (Ames, 1998).

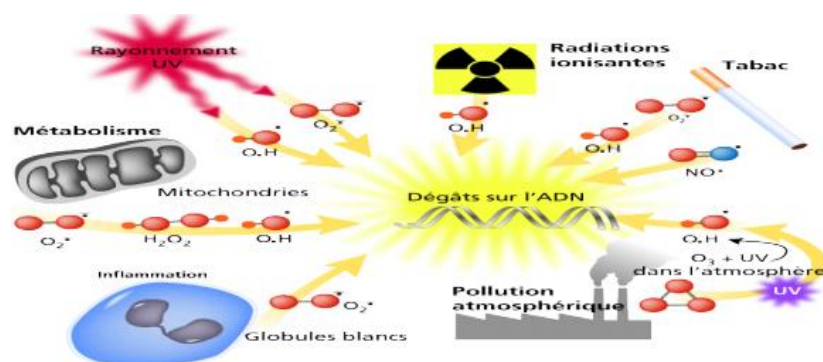


Figure 14 : Les principales sources des radicaux libres (Thanan *et al.*, 2014.).

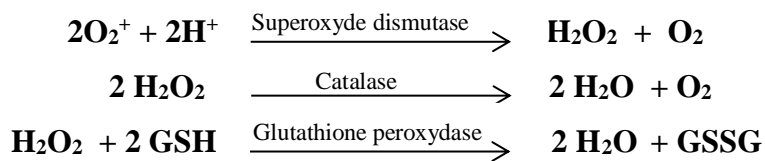
II.3.4.3. Conséquences de stress oxydatif

L'altération des composants cellulaires et des structures tissulaires intervient lorsque l'intensité des phénomènes radicalaires de base augmente d'une façon anormale et dépasse la quantité d'antioxydants disponibles. La conséquence de ce déséquilibre va entraîner une agression appelée « stress oxydatif » (**Rahman, 2003**). Tous les tissus et tous leurs composants peuvent être touchés : lipides, protéines, glucides et ADN, Toutes ces altérations augmentent le risque de plus de 30 processus de différentes maladies (**Mimouni, 2016**).

II.3.4.4. Les antioxydants

Ce sont des molécules qui aident le corps à lutter contre les radicaux libres en les neutralisant, afin qu'ils deviennent inoffensifs, ils peuvent être classés en deux groupes selon le niveau de leur action :

- **Les antioxydants primaires** : qui sont appelés également les antioxydants radicalaires , ce sont Des enzymes antioxydants présentant des systèmes de défense très efficaces constituée de (SOD), de catalase et deperoxydase .Elles permettent l'élimination des radicaux libres primaires, selon les réactions suivantes: (**Favier, 2006**)



- **Les antioxydants secondaires** : qui sont appelés aussi préventifs qui assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des molécules exogènes, des substances décomposant les hydro-péroxydes en alcools, des thiols ou des disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV , Contrairement aux enzymes anti-oxydantes, une molécule d'antioxydant piège un seul radical libre (**Dacosta, 2003**).

II.3.4.5. Mécanismes d'action des antioxydants

Ce sont des agents de prévention, ils bloquent la phase d'initiation du processus d'oxydation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres. Ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. Ils peuvent également chélater des traces métalliques ou encore interrompre la réaction en chaîne de peroxydation. Tandis que d'autres, absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformer en chaleur (**Halliwell, 1994; Berset et Cuvelier, 1996; Favier, 2006**).

II.3.5. Activité insecticide :

Les plantes peuvent fournir des solutions de rechange potentielles aux agents commerciaux de lutte contre les insectes parce qu'elles constituent une source riche en produit chimique bioactifs tels les composés en polyphénoliques, acides phénols et flavonoïdes qui provoquent une perturbation de la mortalité naturelle de l'insecte, la toxicité des polyphénols est positivement corrélée au pouvoir attractif de ces composés (**Regnault-Roger et al., 2004**).

L'effet insecticide des HEs par contact, ingestion et par fumigation a été bien démontré contre les prédateurs des denrées entreposées (**Isman, 2002**).

L'activité insecticide de certaines HEs tels que la menthe, le thym, la sauge, le romarin.. etc. Ces huiles essentielles sont très efficace contre quelques insectes parmi lesquels : *Rhyzopertha domonica* , *Sitophylus oryzae* et *Tribolium castaneum* (**Benazzeddine , 2010**). Cette dernière est un ravageur des produits céréaliers moulus comme la farine et les céréales (**Shaaya et al., 1997**).

Matériel et méthodes

III. Matériel et méthodes

III.1 Matériel végétale :

III.1.1. Mode de conservation:

Les parties aériennes de la plante *Mentha pulegium L.* étudiées ont été récoltées au niveau des différentes régions durant différentes périodes (**Tableau 4, 5 et 6**). Les plantes fraîchement collectées ont été séchées à l'abri de la lumière et dans un endroit sec et aéré à température ambiante pendant 15 jours (**Taalbi, 2016**). Les plantes sont ensuite ramenées aux laboratoires pour l'extraction de leurs huiles essentielles juste après le lavage. Il est à noter qu'une certaine quantité des plantes a été récupérée avant le lavage pour la mesure du taux d'humidité (**Mimouni, 2016**).

III.1.2. Taux d'humidité :

Le contenu en humidité des plantes a été déterminé par le procédé de séchage à l'étuve. Une quantité de feuilles fraîches d'une de masse 5g a été exposée à une température de $105^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ dans une étuve, jusqu'à l'obtention d'un poids constant (général pendant 4 heures) (**Twindell et al., 2007 ; Achak, 2006**).

Le taux d'humidité est calculé par la formule suivante :

$$H(\%) = ((\text{Poids } \alpha - \text{Poids } \beta) / \text{Poids } \alpha) * 100$$

H% : taux d'humidité exprime en pourcentage.

α : Poids de l'échantillon (feuilles fraîche) en gramme.

β : Poids de l'échantillon (feuilles sèches) en gramme.

III.2. L'huile essentielle :

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation.

III.2.1. Extraction par Hydro distillation :

L'hydro distillation est assurée grâce un appareil de type Clevenger (**Figure 15**). Cela consiste à introduire 100 g de matériel végétal dans un ballon de 2 litres contenant de l'eau distillée. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 2-3H à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité. Le liquide (distillat) obtenu à partir de cette opération renferme deux phases :

- ✓ Une phase organique qui contient les huiles essentielles.
- ✓ Une phase aqueuse qui contient l'eau aromatique

L'huile obtenue est conservée à 4°C dans des tubes en verre opaques, fermés hermétiquement pour la préserver de l'air et de la lumière jusqu'à son usage (Abdelli, 2018).

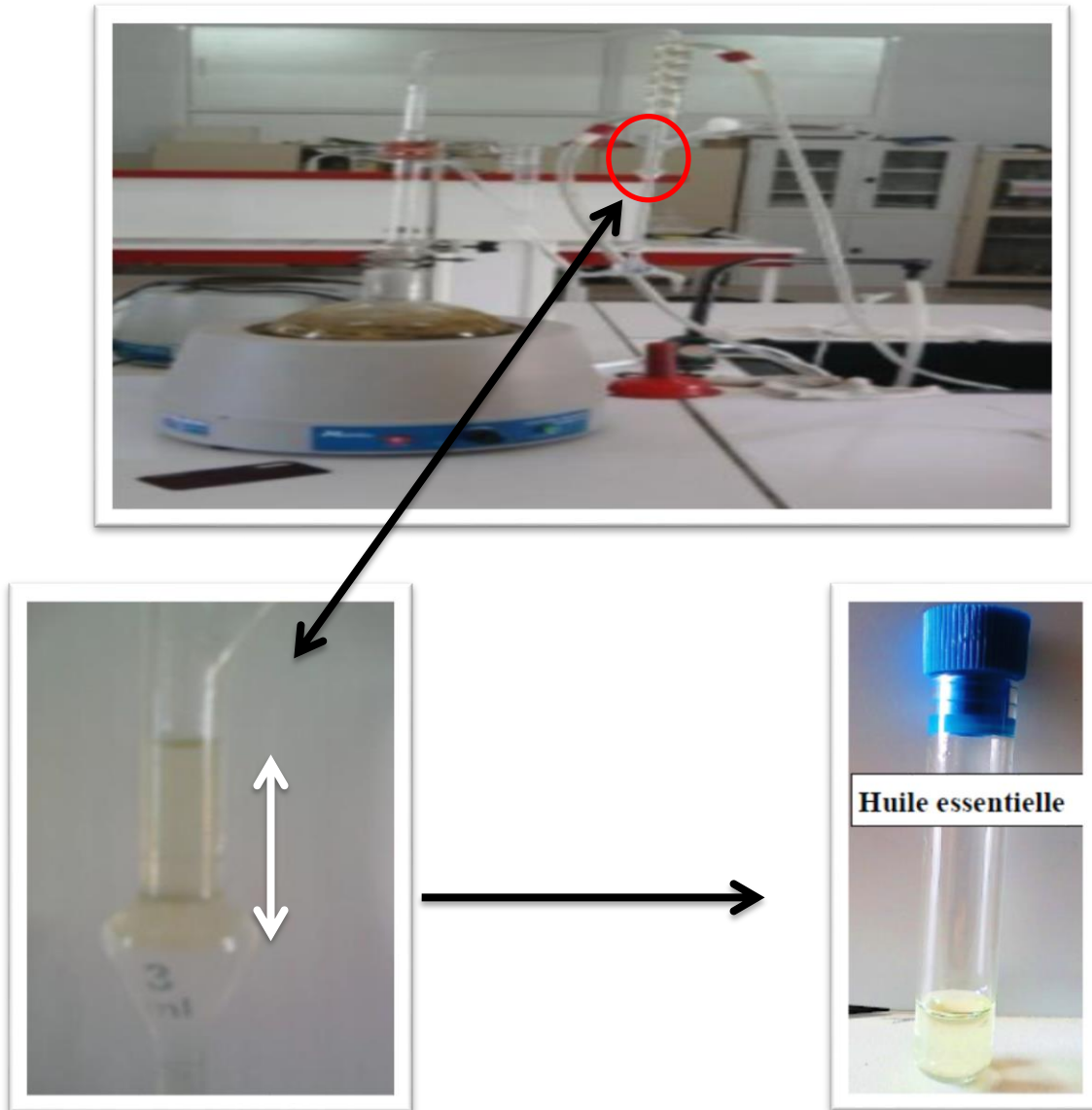


Figure 15: Montage d'un Hydro distillateur de type Clevenger pour l'extraction de l'huile essentielle (Bendjelloul, 2018).

III.2.2. Calcul du rendement :

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale sèche utilisée. Il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R_{HE}\% = \frac{M_{HE}}{M_s} \times 100$$

R_{HE} : Rendement en huile essentielle en %.

M_{HE} : Masse d'huile essentielle en gramme.

M_s : Masse de la plante sèche en gramme.

III.3. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) :

L'analyse et l'identification de la composition chimique de l'huiles essentielle de l'espèce étudiée a été effectuée par la technique de la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) qui a permis à l'aide des banques de données spectrales, de déterminer les composés.

Les analyses ont été effectuées sur un chromatographe en phase gazeuse de type Trace GC ThermoQuest muni d'une colonne capillaire SE-52 de (50 m x 0.25 mm) et 1.0 μ m d'épaisseur de film, couplé à un spectromètre de masse de type ThermoQuest Automass Solo quadripolaire. Les températures de la source ionique et de l'interface ont été réglées respectivement à 230°C et 250°C. Le four a été programmé de 60°C à 250°C, à raison d'une montée de 3°C/min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été fixées à 230°C et 250°C, respectivement. Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1.5 ml/min. 0.1 μ l d'échantillon d'huile essentielle est injecté par le mode split à un rapport de division de 1/100.

Les spectres de masse ont été obtenus par un impact électronique (IE) de 70 eV, un balayage sur une gamme de masse allant de 40 à 500 unités avec une vitesse de 0.5 sec et un filament de 300 μ A (**Abdelli, 2017**).

III.3.1. Identification des composés chimiques

Les constituants de chacune de nos huiles essentielles ont été identifiés en utilisant le logiciel ThermoXcalibur 1.2 en corrélant leurs spectres de masse respectifs avec ceux des bibliothèques (NIST08, Wiley 8^{ème} édition, Adams (**Adams, 2001**) et Mass Finder.

III.4. Activités biologiques des huiles essentielles

III.4.1. Activité antioxydante :

Le pouvoir antioxydant des huiles essentielles de *Mentha pulegium* a été évalué par deux méthodes : le test de DPPH et le test de FRAP.

III.4.1.1. Test de piégeage du radical libre DPPH :

➤ Principe :

Cette méthode spectrophotométrique utilise Le 2,2-diphényl-1-picrylhyrazyl (DPPH) (c'est un radical organique stable de couleur violette) comme réactif. En présence de composés anti radicalaires, celui-ci est réduit en 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine et vire au jaune, la cinétique de décoloration est suivi à 517nm (Maataoui et al., 2006).

➤ Mode opératoire :

Pour les huiles essentielles le protocole suivi est celui décrite par Meghri et al., 2010, Goudjil et al., 2015 avec quelques modifications, l'huile essentielle a été diluée dans le méthanol, puis 1 ml de l'huile à différentes concentrations est mélangée avec 1ml de solution méthanolique de DPPH à 0.004% dans le méthanol. Parallèlement le contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 1ml de solution de DPPH. Le blanc est représenté par le méthanol. Le contrôle positif est représenté par la solution d'acide ascorbique préparé à différentes concentrations dans les mêmes conditions que les échantillons. Le test est répété trois fois pour chaque échantillon. Après une période d'incubation de 30 minutes, les absorbances à 517 nm ont été enregistrées.

○ Expression des résultats :

L'activité anti radicalaire est exprimée par le pouvoir de réduction de la solution éthanol de DPPH• (Rashid et al., 2010). D'après Dung et al. (2008) et Eyob et al., (2008), Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (I%) :

$$\% I = \left[\frac{(A_{\text{contrôle}} - A_{\text{extrait}})}{A_{\text{contrôle}}} \right] \times 100 \quad (A : \text{absorbance/ } I : \text{inhibitions})$$

La concentration inhibitrice de 50% des radicaux libres a été déterminée graphiquement à partir de l'équation de la régression linéaire comme est représenté dans la figure suivant :

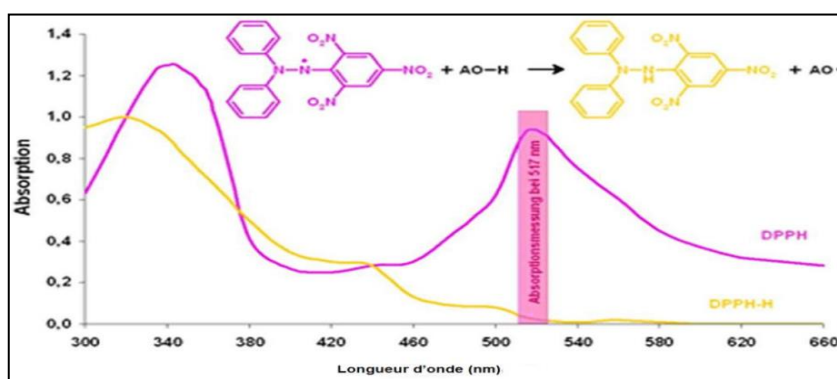


Figure 16: Graphique montrant le changement de couleur de DPPH du violet au jaune quand il est exposé à une substance antioxydant.

Les concentrations des huiles essentielles entre 6.8 et 68 mg/ml, alors que celles de l'antioxydant standard sont entre 0.05 et 0.1mg/ml (5 et 100µg/ml).

III.4.1.2. Test de FRAP :

➤ Principe :

(Ferric reducing antioxidant power) Le test du pouvoir réducteur consiste à évaluer l'aptitude d'un échantillon à donner un électron convertissant le fer de la forme Fe^{3+} à la forme Fe^{2+} qui peut être quantifiée par la mesure de la formation de la couleur bleu (bleu de Prusse) du ferricyanide de potassium ($K_3 Fe (CN)_6$) à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'échantillon possède un grand pouvoir réducteur (**Gholivand et al., 2010**). Le pouvoir réducteur a été déterminé suivant la méthode préconisée par **Oyaizu (1986)**. Avec quelque modification.

➤ Mode opératoire :

Pour ce faire, un volume de 1 ml de chacune des solutions éthanoliques d'huile essentielle préparées à différentes concentrations, est mélangé avec 2.5 ml d'une solution tampon phosphate (0.2 M, pH 6.6) et 2.5 ml d'une solution de ferrocyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%. L'ensemble est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min puis, refroidi à température ambiante avant d'ajouter 2.5 ml d'acide trichloracétique à 10% pour stopper la réaction. Le mélange est centrifugé à 3000 tours/min pendant 10 min. Puis, 2.5 ml de surnageant est mélangé avec 2.5 ml d'eau distillée et 0.5 ml d'une solution aqueuse de trichlorure de fer $FeCl_3$ à 0.1%. La mesure de l'absorbance du milieu réactionnel se fait 10 min après incubation à 700 nm par spectrophotomètre JENWAY 7305 UV-Visible contre un blanc semblablement préparé, en remplaçant l'échantillon d'huile essentielle par de l'eau distillée. Une solution d'acide ascorbique préparée à différentes concentrations et dans les mêmes conditions est utilisée comme contrôle positif.

Les huiles essentielles ont été testées à des concentrations entre 17 et 136 mg/ml, celles de l'antioxydant standard sont comprises entre 0.025 et 0.8mg/ml.

○ Expression des résultats

Les résultats sont exprimés sous forme de graphe où l'abscisse représente les différentes concentrations des huiles essentielles ou bien de l'antioxydant de référence et l'ordonnée représente les différentes absorbances obtenues. L'absorbance augmente en fonction du pouvoir réducteur des échantillons testés à $A_{0.5}$ on peut avoir la concentration efficace EC_{50} qui représente 50% du pouvoir réducteur par extrapolation, ou à partir de l'équation de la régression linéaire (**Oyaizu, 1986**).

III.4.2. Activité insecticide :

III.4.2.1. Matériel animale :

Nom commun : le Tribolium rouge de la farine

Ordre/Famille : coléoptères / *Tenebrionidae*

Nom scientifique : *tribolium castaneum* (herbst 1797)

produit(s) attaqué(s) :graines entreposées , ,graines de Blé oléagineux.

Répartition : Inde, Australie canada et les régions tropicales. Il existe là où les céréale stocker existent sous forme de graine ou de farine

Hôtes mineurs : Haricot, pois, fruits, substance contentent de l'amidon, épices, levure , chocolat .



➤ Mode opératoire :

Les insectes utilisés pour l'évaluation de la toxicité des HEs des feuilles fraîche et feuilles sèches, sont des petits vers de farine, appartenant au genre *Tribolium*. Le but est déterminé la dose des HEs la plus toxique c'est-à-dire la plus faible pouvant induire 100% de mortalité de l'insecte (**Kouninki et al., 2007**).

Différentes dilutions de l'huile essentielle ont été préparées avec différentes d'acétone, 1,5ml de chaque solution (huile dans l'acétone) a été répandu uniformément sur un disque de papier filtre avec un diamètre de 9 cm à l'aide d'un micro-pulvérisateur. Après évaporation complète du solvant de la dilution (acétone), chaque disque traite au témoin (solvant seul) a été minutieusement placé dans une boîte de pétri de même dimension 9cm de diamètre et 2 cm de hauteur.

Un lot de 10 insectes adulte ont été introduits dans chaque boîte de pétri qui a été aussitôt fermée et lacer dans l'étuve. Des témoins sont également préparer afin de vérifier la croissance des insectes et de comparer les résultats les mineuses morts sont comptés au début de 2H puis après 24H et 48H (**Abdelli, 2018**).

Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Taux d'humidité :

IV.1.1. Lieu de récolte :

Le tableau suivant regroupe les coordonnées liées au site et la date de récolte:

Tableau 4. Les stations de récolte de *Mentha pulegium* utilisées pour les résultats du Taux d'humidité.

Plante	Régions	Date de récolte
<i>M.pulegium</i>	Bordj Bou Arreridj	Mars-Avril, 2017
	Mostaganem	Mars 2018
	Ain Defla	mai 2019
	Blida	Mars 2018

La détermination de l'humidité des feuilles de l'espèce de *Mentha pulegium* récolté dans la région de Bordj Bou Arreridj à montrer un taux d'humidité de 81.04% Ce qui veut dire que 18.96% seulement représente le taux de matière sèche ayant servi à l'extraction des HEs.

Pendant que *Mentha pouliot* de la région de Mostaganem a présenté une teneur en eau de 40%, ce qui signifie que la teneur en matière sèche à partir de laquelle les HEs ont été extraites a été de 60%.

Cependant l'analyse de l'échantillon de la même plante a révélé un taux de 13.34% pour celui d'Ain Defla et de 11.48% pour celui de Blida, ce qui indique que le pourcentage de matière sèche utilisée réellement à l'extraction des HEs est de 49.11% et 27.8%, respectivement. Il est à mentionnée que le taux d'humidité mesurer de ces deux dernière régions peut assurer une bonne conservation de la matière végétale selon **Paris et Moyse,1965.**

Ces résultats sont représentés dans la **Figure17** :

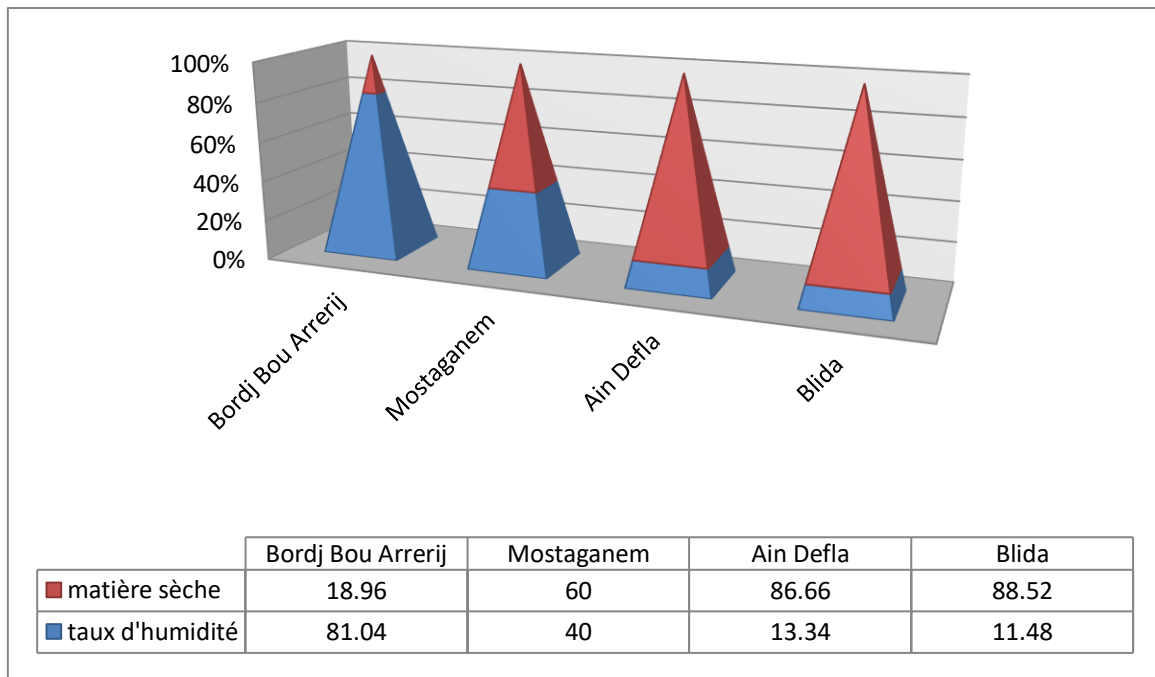


Figure17 : Représentation de taux d’humidité des HEs d’*Mentha pulegium* dans différents régions.

Les résultats de *mentha pulegium* obtenu par (**Bendjelloul, 2018**) dans la région de Mostaganem a présenté un taux d’humidité de 40% qui est nettement supérieur à celui de la région de Ain Defla estimé de 13.34% (**Abid et Mordjani ,2019**) Ce taux se trouve être proche de celui obtenu par (**Abdelli ,2018**) pour la même espèce en provenance de Blida est mesurer 11.48%.

Concernent le pourcentage d’humidité de l’espèce récoltée à Bordj Bou Arreridj par (**Abou et Farreh, 2017**) est également important (81.04%) se trouvant être d’ailleurs élevé par rapport aux rapports précédents.

La comparaison entre les travaux précités dessus a révélé des variations dans la teneur en eau qui peuvent être dues à des facteurs environnementaux tels que les conditions climatiques, le taux d’humidité relative de l’aire et la répartition géographique (**Besombes, 2008**). Ceci pourrait également expliquer la grande différence observée entre la menthe de chacune de ces régions. En effet, la plante présente un taux d’humidité important. Ceci étant probablement dû au fait que les régions de collecte possède un climat très humide soit un climat sec.

IV.2. Extraction de l'huile essentielle :

IV.2.1. Lieu de récolte :

Le tableau suivant regroupe les coordonnées liées au site et la date de récolte:

Tableau 5. Les zones de récolte de *Mentha pulegium* utilisée dans le calcul de rendement, la caractérisation et l'activité antioxydante.

Plante	Pays	Régions	Date de récolte
	Algérie	Tlemcen	Décembre 2017
<i>M.pulegium</i>	Algérie	Laghouat	May–July 2018
	Maroc	Rabat	

IV.2.2. Rendement en huile essentielle:

Les rendements moyens en HEs de *Mentha pulegium* récolté dans 3 régions différentes en Algérie et au Maroc ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche de la partie aérienne. La **Figure 18** résume les rendements en huiles essentielles extraites.

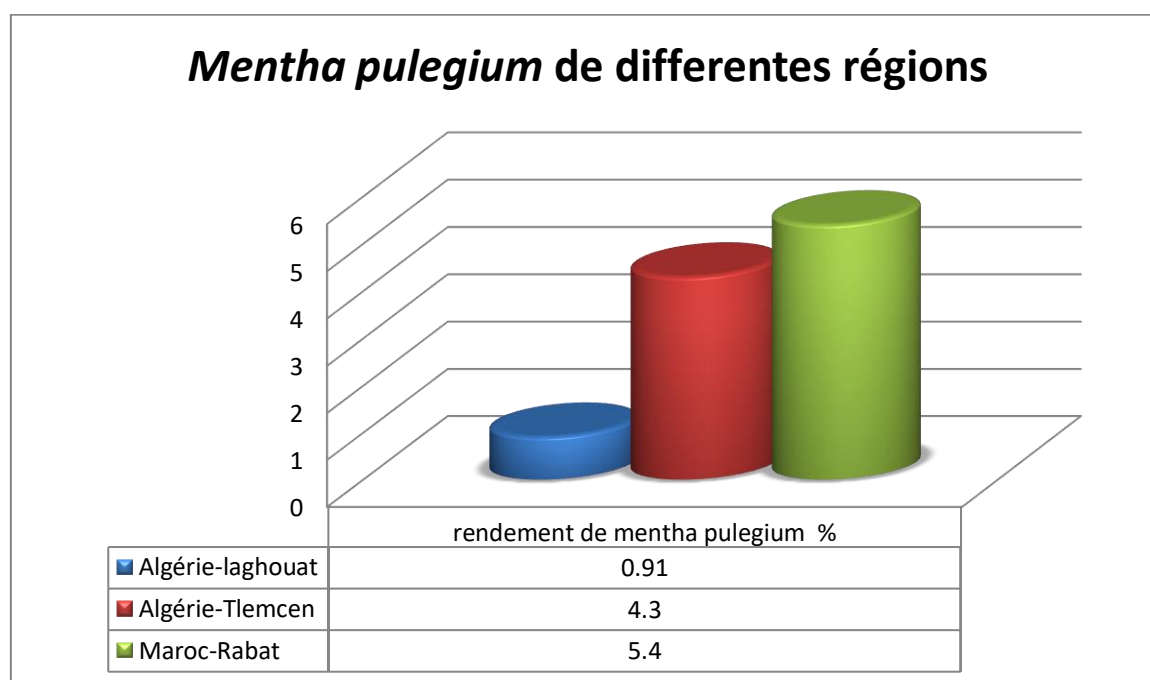


Figure 18: Représentation des rendements des huiles essentielles de *Mentha pulegium*

Cependant, l'étude faite par (Bouyahya et al., 2017) sur la partie aérienne de menthe pouliot de la région de Rabat au Maroc a révélé des teneurs en huile essentielle évalué de 5,4% et il apparaît qu'elle est significativement supérieure à ceux enregistrés en Algérie par (Achiri, 2018) dans la région de Tlemcen et par (Cheraif et al., 2020) dans la région de Laghouat et qui sont de 4,3% et 0.91% respectivement .

Ces variations de teneurs en huiles de *Mentha pulegium* peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle est un produit métabolique de cellules végétales et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat, l'altitude, le taux d'exposition au soleil), le type de sol, le stade de croissance de la plante en question, le choix de la période de récolte car elle est primordiale en termes de rendement et qualité de l'HE. La zone géographique, la génétique de la plante, l'organe de la plante utilisé, le degré de fraîcheur, la période de séchage, la méthode d'extraction employée, etc. Ce sont des facteurs entre autre qui peuvent avoir un impact direct sur le rendement en HE (Benazzouz et Hamdane, 2012).

IV.3. Caractérisation de l'huile essentielle par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) :

Tableau 6. Composition chimique de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* des régions de Tlemcen, Laghouat et Rabat.

Composants	régions		
	Tlemcen	Laghouat	Rabat
α -Thujène	0.1	-	
α -Pinène	0.5	0.7	14.076
Camphène	-	-	
Oct-1-en-3-ol	0.8		
Sabinène	-	0.2	
β -Pinène	0.2	0.8	
Myrcène	tr	0.1	
3-Octanol	0.8	0.2	
p-Cymène	-	0.1	
Limonène	1.1	2.1	
1,8-Cinéole	0.6	0.2	23.673
γ -Terpinène	0.1	-	
Linalool	tr	-	
Nopinone	-		
3-Octyl acétate	-	-	
Trans-p-Menth-2-en-1-ol	-	-	
Trans-pinocarveol	-	-	

Cis-verbénol	-	-	
Menthone	10.8	0.4	21.164
p-Menth-3-en-8-ol	-		
Pinocarvone	-	-	
Iso-Menthone	0.7		
Bornéol	-	-	
Néo-Menthol	1.6		
Cryptone 1	-	-	
Terpinène-4-ol	-	-	
P-cymène-8-ol	-		
Myrtenal	-	-	
Myrtenol	-	-	
Dihydro iso-carveol	-	-	
tran Carveol	-	-	
Cis-Carveol	tr	-	
Trans carveol	-	-	
Pulégone	77.3	76.9	40.98
Cuminaldehyde	-	-	
Carvone	-		
Pipéritone	0.3		
Neo-Menthyl acétate	0.1	-	
P-cymene-7-ol	-	0.1	
Iso-Menthyl acétate	0.1	-	
Pipéritenone	2.7	6.05	
E-β-Caryophyllene	0.3		
α-Humulene	0.4	-	
β-selinene	-	-	
Trans-Calamenene	-		
α-bisabolol	-	-	
α-cadinol	-	-	
β-eudesmol	-	-	
Total d'identification %	98.5	96.8	
Composés hydrocarbonés	2.6		

Monoterpènes hydrocarbonés	1.9	4.0	
Sesquiterpènes hydrocarbonés	0.7	0.2	
Composés oxygénés	91.5		
Monoterpènes oxygénés	91.5	91.7	83.865
Sesquiterpènes oxygénés	-	0.5	
Composés oxygénés non-terpénique	0.8	0.4	

L'analyse par CPG/SM de l'huile essentielle obtenue à partir des parties aériennes de *M. pulegium* a permis d'identifier la composition chimique (**Tableau 7**) :

Cependant, vingt et un constituants représentant 98.5% du mélange de l'HE de Tlemcen. Ainsi, Dix-sept monoterpènes, deux sesquiterpènes et deux composés non terpéniques ont été identifiés. Cette huile est constituée principalement par les composés terpéniques oxygénés (91.5%). Les principaux constituants sont la pulégone (77.3%) et le menthone (10.8%) (**Achiri, 2018**).

Néanmoins, L'HE de *Mentha pulegioides* de Laghouat contient vingt-six constituants volatils, représentant 96,8% du total. Sa composition est dominée (plus de 90%) par les monoterpènes oxygénés: la plante présente en effet un chémotype pulégone car ce composé est le plus abondant (76,9%) dans l'HE, suivi de la pipériténone (6,05%) (**Kadour, 2020**).

Toutefois, l'analyse de la même espèce récoltée dans la région de Rabat a révélé vingt et un composants, principalement représentés par des monoterpènes oxygénés (83,865%), tandis que la menthone (21,164) et la pulégone (40,98) sont les principaux composants majeurs (**Bouyahya, 2017**).

IV.4. Activité biologique :

IV.4.1. Etude de l'activité antioxydante :

IV.4.1.1. Test de DPPH

Le pouvoir antioxydant des HEs testés de 2 régions a été évalué par la méthode de DPPH et est estimé par comparaison avec un antioxydant standard (A. ascorbique), la réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 700 nm provoqué par la présence des extraits phénoliques. Les résultats sont représentés dans le **tableau 5** et la **Figure 19**.

Tableau 7. Valeurs des paramètres antioxydants d'HE de *M.pulegium* obtenues par le test de DPPH.

Régions	DPPH (IC50 ; mg/ml)	A.Ascorbique (mg/ml)
Tlemcen (Algérie)	29.24	0.13
Laghouat (Algérie)	3.07	0.0030

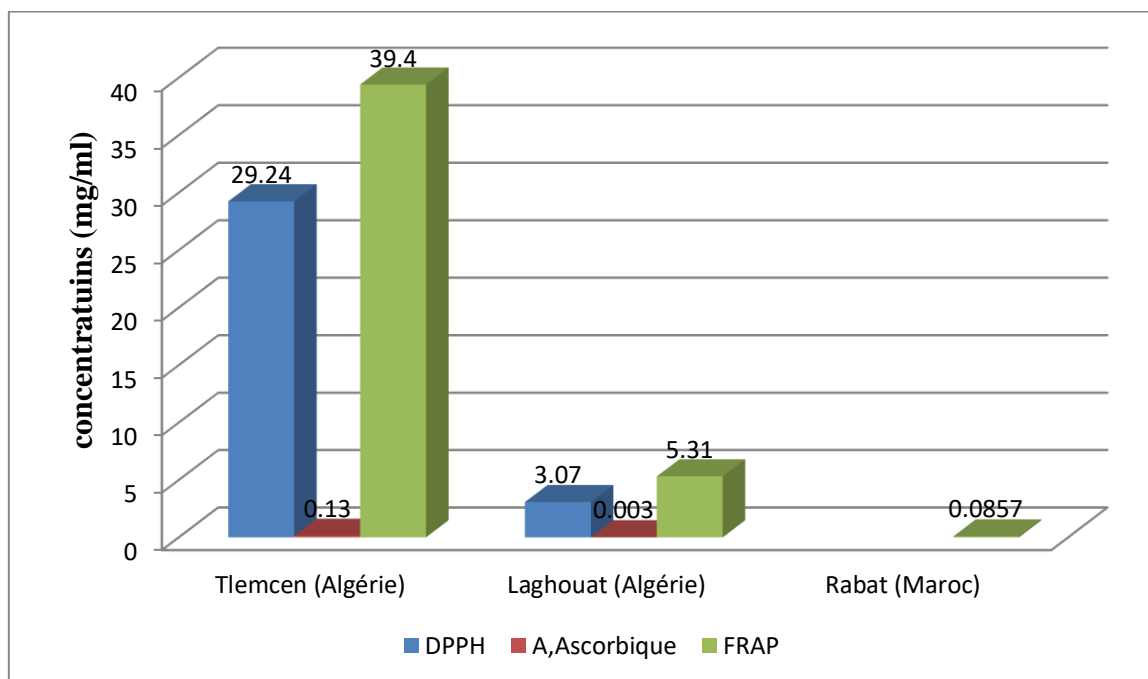


Figure 19: évaluation de pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* des différentes régions.

Commençant par la capacité de piégeage du radical libre DPPH. D'après les résultats obtenus, on peut constater que l'HE de *Mentha pulegium* de la région de Laghouat (Algérie) est le plus actif avec une concentration de 3.07 mg/ml pour piéger 50% du radical libre DPPH, tandis que pour la même espèce récoltée dans la région de Tlemcen, elle est la moins active avec une CI50 dépassant les 29.24 mg/ml. Néanmoins, ces valeurs restent cependant, très élevées comparé à celles d'acide ascorbique qui sont de l'ordre de 0.13 et 0.0030 mg/ml pour HE.MP de Tlemcen et de Laghouat respectivement.

IV.4.1.2. Test de FRAP

L'évaluation de l'aptitude de l'HE de *M. pulegium* à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺), a permis d'obtenir les différents résultats présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8. Valeurs de la CE 50 de l'HE de *M.pulegium* par le test de FRAP.

Régions	FRAP (EC50 ; mg/ml)
Tlemcen (Algérie)	39.4
Laghouat (Algérie)	5.31
Rabat (Maroc)	0.0857

La détermination de la CE50 permet d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles et d'apprécier encore mieux les résultats. Selon le **tableau 6**, l'huile essentielle de *M. pulegium* de l'Algérie présente les valeurs les plus importantes en CE50 pour Tlemcen et Laghouat avec 39.4 mg/ml et 5.31 mg/ml respectivement, comparer au résultat rapporté au Maroc qui représente la valeur la plus faible (0.0857 mg/ml). Ces valeurs reflètent la capacité des huiles à réduire le fer ferrique en fer ferreux correspondant, à une absorbance de 0.5.

- **Discussion**

Ces divergences dans la propriété antioxydante de la menthe pouliot peuvent être dues à sa composition. À cet égard, **Duh (1999)** a pu déterminer que la présence et la synergie des différents antioxydants, présents dans une huile essentielle spécifique, détermineront leurs propriétés antioxydantes. L'inévitable, l'activité antioxydante modérée des huiles essentielles de *M. pulegium* L. étudiée peut être attribuée à sa composition chimique et en particulier à l'absence de pulégone (un fort antioxydant) et à l'abondance de pipéritone qui ne possède pas un bon pouvoir antioxydant (**Ruberto et Baratta, 2000**).

IV.4.2. L'évaluation de la toxicité de *Mentha pulegium* sur *T.Castaneum*

IV.4.2.1. Lieu de récolte :

Le tableau suivant regroupe les coordonnées liées au site et la date de récolte:

Tableau 9. Les zones de récolte de *Mentha pulegium* utilisée pour l'évaluation de l'activité insecticide.

Plante	Pays	Régions	Date de récolte
	Algérie	Berrouagua	juillet 2011
<i>M.pulegium</i>	Tunisie	Oued El Abid	
	Maroc	Gharb	Mai - juin 2015

Le taux de mortalité des adultes de *T.Castanium* , traités au différentes dose de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* est représenter dans les figures 20,21 et 22.

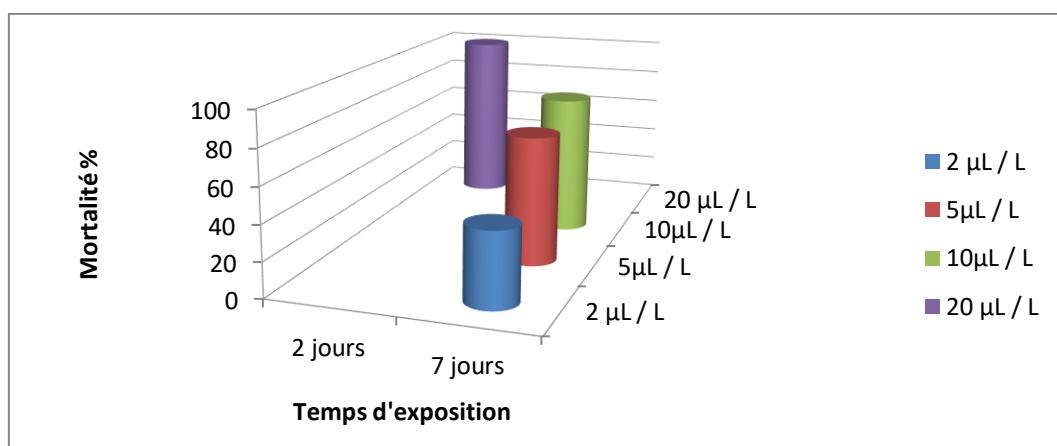


Figure20 : Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* de Maroc.

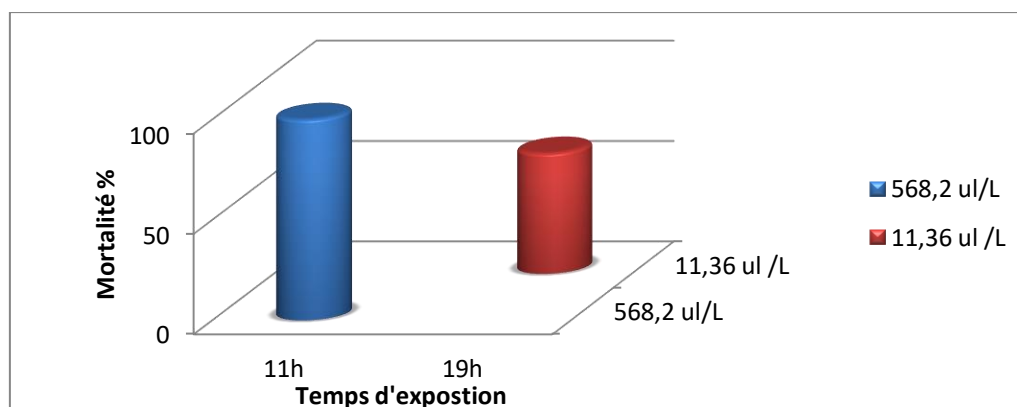


Figure21 : Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* de Tunisie.

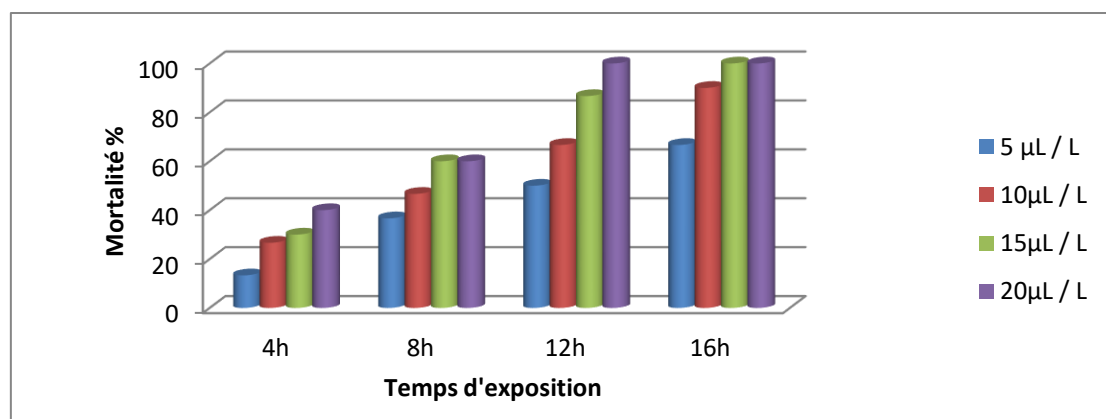


Figure 22 : Analyse comparative des pourcentages de mortalité des différentes concentrations de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* d'Algérie.

L'huile essentielle de *Mentha pulegium* a induit une activité insecticide contre les adultes de *Tribolium Castaneum* (**Figure 1**). La concentration de 20 µl / l d'air a conduit à 100% de mortalité chez l'insecte après 48h d'exposition, tandis que la concentration de 10 µl / l a conduit à une mortalité de 80% après 7 jours. Cependant, après une même durée d'exposition les doses de 2 et 5 µl / l d'air n'étaient pas aussi efficaces pour tuer *T. Castaneum* avec 42,30% et 73,07% de mortalité, respectivement (**Lougramzi et al., 2018**).

La concentration la plus élevée d'huile essentielle de pennyroyal (586,2 µl / l d'air) a causé 100% de mortalité des adultes de *T. Castaneum* après seulement 11 h d'exposition. De plus, la plus faible concentration d'HE pennyroyal (11,36 µl / l air) a causé une mortalité de 60% des insectes *T. Castaneum* après 19 h d'exposition. (**Figure 2**) (**Salem, 2017**).

Quant à **karahaçane 2015**, les mortalités ont commencées à apparaître 4 heures après traitement avec un taux de 13,33 % à une dose de 5 µl / l, 26,66% à la dose de 10 µl / l, 30% à la dose 15 µL / L et 40% à 20 µL / L. Après 8, 12 et 16h d'exposition, les mortalités ont évoluées rapidement et proportionnellement aux doses et aux temps pour passer de 60% à 86,66% , 90% et 100% (**Figure 3**).

Dans cette étude, la haute sensibilité des adultes de *Tribolium castaneum* à l'ingestion d'huile essentielle de *Mentha pulegium* a causé la mortalité totale des insectes à une dose de 20 µl/l d'air, ce résultat étant démontré dans le travail de (**karahaçane, 2015**) en Algérie est similaire à celui présenté par (**Lougramzi et al., 2018**) au Maroc .

- **Discussion**

L'HE de *M. pulegium* a considérablement réduit la survie des populations des adultes de *Tribolium castaneum* en utilisant les différentes méthodes testées dans ce travail sans affecter la germinabilité des graines de blé traitées.

Dans certains cas, les résultats étaient similaires ou supérieurs du fait que l'insecte a été influencée par la dose, le temps d'exposition, la méthode par laquelle l'activité insecticide de l'huile essentielle a été démontrée et les espèces végétales produisant de l'huile essentielle.

En fait, l'analyse de la cause de la résistance des graines doit inclure la prise en compte des caractéristiques comportementales et physiologiques de l'insecte et de l'hôte (**Bakkali Aissaoui et al., 2018**).

Conclusion

IV. Conclusion

L'Algérie jouit, de par sa situation géographique, d'une grande variation climatique et de grandes ressources hydriques, ce qui en fait un pays qui regorge d'espèces végétales dotées de pouvoirs thérapeutiques divers.

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de l'obtention d'une matière naturel de bonne qualité qui sera utilisée comme un alternatif aux produits chimiques, et pesticides synthétisé dans plusieurs domaines industrielles, qui sont remis en cause pour leur impact sur la santé humaine et l'environnement.

Dans ce contexte, on a tenté de contribuer à la valorisation d'une plante aromatique pour ce faire, nous avons essayés d'établir une comparaison entre différents résultats afin d'évaluer l'activité antioxydante et insecticide de l'huile essentielle extrait de la plante *Mentha pulegium* utilisée en médecine traditionnelle en Algérie pour ces vertus phytothérapeutiques.

Mentha pulegium poussant à l'état spontané en Algérie et en Maroc, a été récolté dans la région de Tlemcen, Laghouat et Rabat respectivement a fait l'objet d'une extraction de son huile essentielle par hydro-distillation, celle-ci c'est révélée l'une des techniques les plus appropriées par rapport aux rendements relativement assez élevées (5.4, 2.7 et 0,91 % considérablement).

L'analyse chromatographique a révélé la présence de 21 et 26 composés dont 02 principaux le Pulegone (77,3%, 76,9% et 40,98 %) et le Menthone (10,8%, 0,4% et 21.16%) dans les régions de Tlemcen, Laghouat et Rabat respectivement et donc, nous pouvons dire que cette huile est à chémotype Pulegone.

L'activité antioxydante des HEs de *Mentha pulegium* a été également étudiée par la méthode de réduction du DPPH et qui a permis de montrer que celle-ci possède un pouvoir antioxydant plus fort que celui de l'acide ascorbique. Les IC50 obtenues étaient de 29.24 mg/ml pour l'huile de *Mentha pulegium* de Tlemcen ; 3.07 mg /ml pour celui de Laghouat .De même, le pouvoir anti radicalaire de l'acide ascorbique était de 0.13 et 0.0030 mg /ml pour les régions de Tlemcen et Laghouat respectivement. En ce qui concerne la méthode de FRAP, les valeurs de CE50 se situées à 39.4mg/ml et 5.31mg/ml pour l'HE de M.P de Tlemcen et Laghouat en l'Algérie. Ces valeurs sont significativement importantes par rapport à celle de Rabat au Maroc (0.0857 mg/ml).

L'évaluation de la toxicité des plantes cultivées à l'aide de leurs HEs sur les adultes de *T. casraneum* a révélé que *Mentha pulegium* Algérienne et de Maroc sont les plus actives en

causant 100% de mortalité impliquant une concentration faible par rapport à celle de Tunisie qui est la moins active.

Perspective

Etant donné que la plante étudiée se caractérise par des molécules particulièrement intéressantes qui nécessitent d'être exploitées et que les résultats obtenus sont prometteurs, nous proposons :

- ✚ l'isolement et la caractérisation des composés actifs dans les HES en vue d'identifier les différentes molécules responsables des différentes activités biologiques de cette plante.
- ✚ de poursuivre les efforts de recherche sur d'autres plantes afin d'élargir la liste, de généraliser l'étude sur les différents organes de la plante en recombinaison avec la date de récolte, les types d'extractions et les différents types de traitement.
- ✚ Réunir aussi tous les autres paramètres nécessaires afin de les proposer à un programme de lutte éventuelle.
- ✚ Utilisation dans la stérilisation de l'atmosphère des hôpitaux ainsi que dans les bibliothèques et les musées pour la conservation des objets de valeurs.
- ✚ Développer les agents antioxydants pouvant constituer une alternative à certains additifs synthétiques pour les utiliser dans le secteur agroalimentaire ainsi que dans des applications thérapeutiques, pharmaceutiques et cosmétiques.
- ✚ L'extraction des HES des plantes aromatiques afin de les suggérer comme des alternatives potentielles aux pesticides synthétiques conventionnels pour pallier les problèmes environnementaux et de santé générés par l'usage intensif de ces produits chimiques.

REFERNCES

BIBLIOGRAPHIQUES

IV. Références bibliographique

Abdel, H., 2003, Biosystématique végétale , *INA EL –Harrach* ,(1),17p.

- **Abdelli M, 2018**, valorisation des effets thérapeutiques des huiles essentielles de quelques espèces de menthe cultivées en Algérie ,optimisation des paramètres d'extraction par entraînement à la vapeur d'eau et hydro-distillation, *thèse de doctorat* ,*Université Houari Boumedienne-USHB* ,*Fac. De génie mécanique et de génie de procédé*, 232p.
- **Abdelli W, 2017**, Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*, *thèse de doctorat* *Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem*, *Fac. des sciences de la nature et de la vie* ,214P.
- **Abid A., et Morjani N, 2019**, Valorisation de l'Huile Essentielle de *Mentha pulegium* L. récoltée dans la région de Rouina Wilaya d'Ain Defla, *mémoire de Master*, *Université Djilali Bounaama*, *Fac. Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre -KHemis Meliana*,63P.
- **Abou N., et Farah Kh, 2017**, Activité antioxydant et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium* , *Mémoire master* , *Université Mohamed El Bachir El Ibrahimy*, *Fac. Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers - B.B.A*, 72 P.
- **Achak N, 2006**, Contribution à la valorisation naturelle : Etude des huiles essentielles des cupressacées de la région Tensift Al Haouz-Marrakech. *Thèse III° cycle*, *Université Cadi Ayyad* , *Fac ;Sciences Marrakech*,304 P.
- **Achiri R, 2018**, Etude chimique et activité antioxydante des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Lavandula angustifolia* et *Verbena officinalis* au niveau de la pépinière de Ain Fettouh, *mémoire master*, *université Tlemcen* ,*Fac. Des sciences*.42P.
- **Adams R.P, 2001**, Identification of essential oil components by Gas Chromatography Quadropole Mass Spectroscopy. *Allured Pub. Corp., Carol Stream, IL*
- **Addadi H., et Ferradji S, 2014**, extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale « la menthe », *mémoire de master* ,*université Dr Molay tahar Saida*,*Fac. des Sciences*, 68P.
- **AFNOR** (Association Française de Normalisation), 1986, Recueil des normes françaises "huiles essentielles". AFNOR, Paris, 57p.

- **AFNOR** (Association Française de Normalisation), 2000, Recueil des normes françaises “huiles essentielles”. Monographies relatives aux huiles essentielles,(2), Paris.
- **Ames B. N. et Beckman K. B, 1998**, The free radical theory of aging matures , *Physiol. Rev.* (78), 574- 581p.
- **Amiot J, 2005**, *Thymus vulgaris*, un cas de polymorphisme chimique pour comprendre l'écologie évolutive des composés secondaires, *Thèse de Doctorat, Université Montpellier, Fac. ENSA.* 77p.
- **André R, 1998**, La maladie de parkinson, Masson, pp :16-19.
- **Antolovich M., Prenzler P. D., Patsalides E., Mc Donald S. et Robards K., 2002**, Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198p.
- **Anton R., Lobstein A, 2005**, Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, *Tec & Doc*, Paris.
- **Aruoma O.I, 1998**, Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of American Oil Chemist Society*,199-212p
- **Avlessi F.,Alitonou G., Tindo Djenontin S, 2012**, Chemical composition and biological activities of the essential oil extracted from fresh leaves of *Chromoleana odorata* (L. Robinson) growing in Benin. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3), 7-13P.

Bakkali Aissaoui A., El Amrani A., Zantar S.,Toukour L,2018, Activité Acaricide Des Huiles Essentielles Du *Mentha Pulegium*, *Origanum Compactum* Et *Thymus Capitatus* Sur L'acarien Phytophage *Tetranychus Urticae* Koch (Acari : Tetranychidae), *European Scientific Journal edition*, (1),41857 – 7881P.

- **Barry N, 2001**. Art d'extraire les huiles essentielles. De parfum à faire soi-même, 125-128p.
- **Bartosz G., 2003**, Generation of reactive oxygen species in biological systems. *Comments on Toxicol*, vol 9, 5-21p.
- **Baser K.H.C., Buchbauer G, 2010**, Handbook of essential oils: Science, technology, and applications. *CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC. Boca Raton. New York*, 994p.
- **Bechiri S., Tahar Mezedek S, 2018**, Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* de la région d'El Kantara (wilaya de Biskra) et de

Mentha pulegium de la forêt de Mesra (wilaya de Mostaganem), *mémoire master*, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Fac. des Sciences de la Nature et de la Vie, 117P.

- **Beghidja N., Bouslimani N., Benayache F., Benayache S., et Chalchat J. C, 2007**, 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.
- **Bekhechi C, 2008**, Analyse des huiles essentielles de quelques espèces aromatiques de la région de Tlemcen par CPG, CPG-SM et RMN 13 C et étude de leur pouvoir antibactérien. *Thèse Doctorat. Université Tlemcen, Fac. des Sciences de la Nature et de la Vie*, 205 p.
- **Belaiche P, 1979**, L’aromatogramme, Traite de phytothérapie et d’aromatherapie, *M.S.A. Editeur*, Paris, (1), 204 P.
- **Beloued A, 2001**, Plante médicinale d’Algérie, (menthe pouliot) , 2^{ème} ed, *OFFICE DES PUBLICATIONS UNIVERSITAIRES* , Algerie , 136p.
- **Benayad N, 2008**, Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, *Mémoire master, Université Kasdi Merbah , des Sciences de Rabat-Maroc*. 63P.
- **Benazzeddine S, 2010**, Effet insecticide de cinq huiles essentielles vis- à - vis de *Sitophilusoryzae* (Coleoptera; Curculionidae) et *Triboliumconfusum* (Coleoptera; Curculionidae). *Mémoire, Ecole nationale supérieure agronomique El- Harrach d’Alger*. 71P.
- **Benazzouz A., Hamdane A, 2012**, étude et analyse des plantes médicinales algérienne : *Mentha pulegium* ,*Mentha rotundifolia* et *Mentha spicata* , *mémoire master, Université Mouloud Mammeri-Tizi Ouzou, Fac. Des sciences*, 101P.
- **Benbouali M, 2006** , Valorisation des extraits de plantes aromatiques et médicinales de *Mentha rotundifolia* et *Thymus vulgaris* ,*Mémoire de magister, Université Hassiba Ben Bouali, Fac. Des science et science de l’ingénieur - Chlef* , 177P.
- **Bendjelloul F, 2018**, Détermination du pouvoir antibactérien et antifongique de l’huile essentielle de *Menthapulegium* L. sur quelques microorganismes phytopathogènes ,*mémoire master, Université Abdelhamid Ibn Badis, Fac. des Sciences de la nature et de la vie - Mostaganem* .69P.

- **Bengacemi L.,et Benhenni R,2005**, Extraction de *l'artemisia herba alba* (armoise blanche) poussante en Algérie. Mémoire de fin d'études de génie des procédés U.S.T.H.B, 2-15P.
- **Berset C., Cuvelier M.E, 1996**, Méthodes d'évaluation du degré d'oxydation des lipides et de mesure du pouvoir antioxydant. *Science des Aliments*, **16**, 219-245P.
- **Besombes C, 2008**, Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques. Applications généralisées. *Thèse de doctorat, Université de La Rochelle, France*, 289p.
- **Botineau M, 2010**, Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs , (4), *Tec & Doc, LAVOISIER*, Paris,32P.
- **Bouchonnet S. et Libong D, 2002**, Le couplage chromatographique en phase gazeuse-spectrométrie de masse, Ecole Polytechnique, *PALAISEAU Cedex*.
- **Bouhaddouda N, 2016**, Activités antioxydante et antimicrobienne de deux plantes du sol local : *Origanum vulgare* et *Mentha pulegium* , *Université Badji Mokhtar – Annaba, thèse de doctorat , Fac. Des sciences*,205P.
- **Bouras N., Hachemi A, 2018**, Etude préliminaire des activités biologiques (insecticide et antifongique) des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus sp.* et *Origanum sp.* *Mémoire master, Université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem, Fac. des Sciences de la Nature et de la Vie*, 58P.
- **Bouyahya A., Touys A., Bakri Y., Talbau A., Fellah H., Abrini J., Dakka N, 2017**, Chemical composition of *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* essential oils and their antileishmanial, antibacterial and antioxidant activities, *Elsiver* ,(111), 41-49P.
- **Boyd B., Ford C., Koepke M.C., Gary K., Horn E., McAnalley S. et McAnalley B, 2003**, Etude pilote ouverte de l'effet antioxydant d'Ambrotose sur des personnes en bonne santé, *Glycoscience & Nutrition*. 4 (6):7P.
- **Bruneton, J, 1999**, Pharmacognosie, Phytochimie – Plantes médicinales – 3ème Ed *Techniques et documentations*. Paris. 484-488P .
- **Burda S. et Oleszek W, 2001**, Antioxidant and antiradical activities of flavonoids. *J. Agric. Food Chem*, (6), 2774-2779P.
- **Burt S, 2004**, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food and Microbiology*. 94: 223-253P.

Caillet S., Lacroix M., Turgis M., Han J., 2009, Antimicrobial activity of mustard essential oil against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhi*. *Food Control*,20(12), 1073-1079p.

- **Capon M., Courilleau V., et Valette C ,1993**,Chimie des couleurs et des odeurs, *cultures et techniques* , Nantes, 255P.
- **Chaintreau, A., D. Joulain, C. Marin, C.-O. Schmidt, et M. Vey,2003** , GC-MS quantitation of fragrance compounds suspected to cause skin reactions. 1. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(22): 6398-6403p.
- **Chalchat JC., Garry RP., Michet A., Benjilali B., Chabat JL, 2000**,Essential oils of rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*): The chemical composition of oils of various origins (Morocco, Spain and France). *Journal of Essential Oil Research*,(5),613-618P.
- **Cosentino S., Tuberoso C.I.G., Pisano B., Satta M.V., Arzedi E., Palmas F, 1999**, *In vitro* antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian *Thymus* essential oils. *Lett Appl Microbiol*, **29**, 130-135p.
- **Cowan M.M,** 1999: Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol. Rev.* 12(4): 564- 582P.
- **Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R., Wyllie S.G, 2000**, The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, **88**(1), 170-175p

Dacosta Y, 2003 , Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques, *Yves Dacosta, Paris*, 317P.

- **Degryse A.C., Delpla I and Voinier M.A, 2008**, Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Atelier santé environnement-IGS-EHESP*, 87P.
- **Deschepper, 1990**, Variabilité de la composition des huiles essentielles et intérêt de la notion de chémotype en aromathérapie,*Université d'Aix-Marseille – Fac. de Pharmacie* ,172P.
- **Dorman HJ., Kosar M., Kahlos K. et al., 2003**,Antioxydant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha species*, hybrids, varieties and cultivars, *J Agric Food Chem* 51:4563– 9654P .
- **Douglas A., Skoog H.F.J., Nieman T.A, 2003**, Principe d'analyse instrumentale, 5ème édition, *de Boeck diffusion*,944P.

- **Dung N.T., Kim J.M., Kang S.C, 2008**, Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and the ethanol extract of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry buds. *Food and Chemical Toxicology*, **46**(12), 3632-3639p
- **Duraffourd. C, Lapraz. J.C, Chemli. R,1997**, La plante médicinale de la tradition à la science. 1er congrès International. Tunis ,*Granche*. Paris. France.

EL Rhaffari L., Zaid A, 2004, Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, *Edition de l'Institut de Recherche pour le Développement*, Paris ; 293-318P.

- **Eyob S., Martinsen B.K., Tsegaye A., Appelgren M., Skrede G, 2008**, Antioxidant and antimicrobial activities of extract and essential oil of korarima (*Aframomum corrorima* (Braun) P.C.M. Jansen). *African Journal of Biotechnology*, **7**(15), 2585-2592p

Favier A, 2006, Stress oxydant et pathologies humaines, *Ann. Pharm.* France,390-396p.

- **Ferkous I, 2016**, Les huiles essentielles et l'aromathérapie, Cas de la menthe poivrée (*Mentha x piperita*), *mémoire master, Université des Frères Mentouri Constantine, Fac. des Sciences de la Nature et de la Vie*, 53P.
- **Fouché J.G, A. Marquet and A. Hambuckers, 2000**, Les Plantes Médicinales, de la plante au médicament Observatoire du Monde des Plantes Sart-Tilman. France.204 p.
- **France-Ida J., 1996**. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles, *Info-essences, Bulletin sur les huiles essentielles*. (3), 5-6P.
- **Franchomme P., Jollois R. & Penoel D,1990**, L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle, *Limoges, France* .

Garneau F.-X, 2005, Le matériel végétal et les huiles essentielles ,*Laseve-UQAC*.

- **Garnero J, 1991**, Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation. *Ed. Encyclopédie des médecines naturelles*, Paris, France ,2-20P.
- **Garnero J,1996**, *Phytothérapie-aromathérapie, Encycl. Méd. Nat* ed.

- **Gholivand M.B., Rahimi-Nasrabadi M., Batooli H., Ebrahimabadi A.H, 2010**, Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Psammogeton canescens*. *Food Chem. Toxicol*, **48**(1), 24-28P.
- **Goudjil M, Segni L., Bencheikh S.E., SouadZ, 2015**, Chemical Composition, Antibacterial and Antioxidant Activities of the Essential Oil Extracted from the *Mentha piperita* of Southern Algeria, *Research Journal of Phytochemistry*, **9**(2), 79-87P.
- **Guignard, J.-L. et Potier P, 2000**, Biochimie végétale, 2ème ED, vol.2. : *Dunod*.
- **Guinoiseau E, 2010**, Molécules, antibactérienne issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, *Thèse de Doctorat, Université de Corse, Fac.science de la nature et de la vie*, France, 50p.
- **Guy G, 2005**, Les plantes aromatiques et huile essentielle a grasse, édition l'Harmattan.

Halliwell B, 1994, Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause or consequence?, *Lancet*, 344(8924), 721-724p.

- **Hayashi T., McMahan H., Yamasaki S. , Binz T., Hata Y. , . Südhof T.C, Niemann H, 1994**, Synaptic vesicle membrane fusion complex: action of *clostridial neurotoxins* on assembly EMBO J., 13 , pp.5051-5061.
- **Hubert R, 2011**, les plantes aromatiques et huiles essentielles à Grasse : Botanique de *mentha pulegium* , *Le Harmattan*, Paris-France, 214-215P.

Isman M. B, 2000, Plant essential oils for pest and disease management, *Jollois Ed. Limoges*, France, vol. 19, 603- 608P. .

Jouault S, 2012, La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité, *Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Faculté de pharmacie, Université de Lorraine*. France. 147P.

Kadour C., Bakchiche B., Gherib A., K. Bardaweel S., Çol Ayvaz M.,³ Flamini G., Ascrizzi R., and A. Ghareeb M, 2020, Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Tyrosinase, Anti-Cholinesterase and Cytotoxic Activities of Essential Oils of Six Algerian Plants , *Academic Editor and Vincenzo De Feo*, **25**(7), 1710P.

- **Karahaçane T., 2015**, activité insecticide des extraits de quelques plantes cultivées et spontanées sur les insectes en blé du plant récolté, *doctorat, agronomie*, université de Khemis Miliana, Fac. Des sciences de la nature et de la vie, 166 P.
- **Kouninki H., Hance T., Martin N., Ngamo L S.T., L.S.T et Ngassoum M.B, 2007**, Potential use of essential oils from local Cameroonian plants for the control of red flour weevil *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae), African journal of food of agriculture nutrition and development, 7(5), 1684-5374.

Lahrech K, 2010, Extraction et analyses des huiles essentielles de *Mentha pulegium* et de *Saccocalyx satureioides*, Tests d'activités antibactériennes et antifongiques, *Thèse Mjister, Université d'Oran Es-Senia, Oran. Fac. des sciences*, 121P.

- **Lakhdar L, 2015**, Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur les bactéries actinomycètes commensales : étude in vitro, *Fac. de médecine dentaire de Rabat, centre d'étude doctorales des sciences de la vie et de la santé*.
- **Lougraimzi H., El Iraqui S., Bouaichi A., et Gouit S, 2018**, Insecticidal effect of essential oil and powder of *Mentha pulegium* L. leaves against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus, 1763) and *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Curculionidae, Tenebrionidae), the main pests of stored wheat in Morocco, *Polish Journal of Entomology*, 87(3), 263-278P.
- **Lucchesi M.E, 2005**, Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. *Thèse de doctorat en Sciences, Université de la Réunion, France*, 146p.

Maataoui B.S., Hmyene A., Hilali S, 2006, Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*). *Lebanese Science Journal*, 7(1), 3-8p

- **Maihebiau P, 1994**, La nouvelle aromathérapie: biochimie aromatique et influence psychosensorielle des odeurs, *Lausanne*. 635P.
- **Masso R, 2007**, L'Aromathérapie & Les huiles essentielles, *TEC&DOC, Lavoisier*, Paris. 1021-1043P.
- **Mc Nair H.M., Miller J.M, 1997**, Basic gas chromatography- Techniques in analytical chemistry. *A Wiley Interscience Publication, John Wiley & Sons, INC*, 204p.
- **Mimouni M, 2016**, Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* de deux régions Mostaganem et Relizane, *mémoire master*,

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem , Fac. des Sciences de la Nature et de la Vie,65P.

- **Moldovan R. I. et Oprean R, 2014**,Comparative study of essential oil from two species of mint grown in Orăștie,” *Farmacia*, vol. 62, no. 1.
- **Möller K, 2008**, La distillation à l’alambic, un art à la portée de tous. *Ed.UNICO*, Paris.
- **Moss M., Hewitt S. et Moss L, 2008**, Modulation of cognitive performance and mood by aromas of peppermint and ylang-ylang. *J. Neuroscience*. 118(1):59-77P.

Newman D.J., Cragg G.M. & Snader K.M, 2003, Natural products as sources of new drugs over the period 1981 – 2002. *J. Nat. Prod.*vol. 66: 1022 – 37P.

Olle M .et Bender I, 2010, The content of oil in umbelliferous crops and its formation *Agronomy research*, vol.3,687-696P.

- **Ouibrahim A., 2014**, Evaluation de l’effet antimicrobien et antioxydant de trois plantes aromatiques(*Laurus nobilis L., Ocimum basilicum L. et Rosmarinus officinalis L.*) de l’Est Algérien , *UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA, Fac. Des sciences*,117P.
- **Oussou K.R., Kanko C., Guessenn K.N., Yolou S., Koukoua G., Dosso M., n’guessan Y.T., Figueredo G., Chalchat J.-C, 2009**, Activités antibactériennes des huiles essentielles de trois plantes de Côte d’Ivoire. *C. R. Chimie*,vol.7, 1087-1086p.
- **Oyaizu M, 1986**, Studies on product of browning reaction prepared from glucosamine. *Ed ;Jpn J Nutr*,vol44, 307-315p.

Paris R.R., et Moyse H,1965, Précis de matière médicale, *Edition Masson*.1437p.

- **Pellerin P, 1991**, Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavour and perfume industry. *Perfum. Flavor*, **16**(4), 37-39p.
- **Pibiri M.C, 2006**,Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huiles essentielles, *Thèse de Doctorat ès science. EPFL,Ed:Lausanne, Suisse. Fac.environnement naturel , architectural et construit* ,177P.

- **Pincemail, J., Bonjean, K., Cayeux, K., Defraigne, J.O, 2008**, Mécanismes physiologiques de la défense antioxydant, *Nutrition Clinique et Métabolisme*, vol.16, 233- 239P.
- **Piochon M, 2008**, Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. *Mémoire. Université du Quebec à Chicoutimi. Canada, 200p.*

Quezel P. et Santa, S, 1963, La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. CNRS. *Ed. Paul Le chevalier*, Paris.

Rahman A.U., Nasim S., Baig I., Jalil S., Orhan I., Sener B. et Choudhary M.I ,2003,

Anti-inflammatory isoflavonoids from rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*,vol. 86, 177-180P.

- **Regnault Roger C., et Hamraoui A, 1995**, Fumiganttoxicactivity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelidesobtectus* (Say) (*Coleoptera*), a bruchid of kidneybean (*Phaseolusvulgaris L.*),*J. StoredProd. Res*,vol. 31, 291-299P.
- **Rouessac F et Rouessac A, 2009**, Analyse chimique, méthodes et techniques expérimentales. (7), *DUNOD*.
- **Roulier G,1990**, Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie, Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes *Dangles* .
- **Ruberto G., Baratta M,2000**,Antioxidant activity of selected oil component in two lipid model systeme , *Food chemistry*,(69),167-174P.

Salem N., Olfa Bachrouch O., Jazia Sriti J., Kamel Msaada K., Saber Khammassi S.,

Majdi Hammami M., Selmi S., Emna Boushah E., Souha Koorani S., Manef Abderraba M., Brahim Marzouk B., Férid Limam F. and Jouda Mediouni Ben Jemaa J,2017, Fumigant and repellent potentials of *Ricinus communis* and *Mentha pulegium* essential oils against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*, *International Journal of Food Properties*, (20), 2899-2913P.

- **Sarikurkcu C., Eryigit F., Cengiz M., Tepe B., Cakir A. & Mete E, 2012**, Screening of the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Mentha pulegium L.* from Turkey. *Spectrosc. Lett.* 45:352-358P.

- **Sarikurkcu C., Eryigit F., Cengiz M., Tepec B., Cakir A., and Mete E, 2012**, Screening of the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Mentha pulegium* l. from Turkey, *Spectrosc. Lett. Int. J. Rapid Commun.*, 45(5), 352–358P.
- **Shaaya E. and M Kostyukovysky, 2006**, Essential oils: potency against stored product insects and mode of action. *Stewart Post harvest Review* , (4)5.
- **Sipailiene A., Venskutonis P.R., Baranauskiene R. & Sarkinas A, 2006**: Antimicrobial activity of commercial samples of thyme and marjoram oils. *J. Essent. Oil Res.* vol. 18, 698-703P.
- **Smallfiel B, 2001**, Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary Purposes. *Crop & Food Research*, n.45, 4 P.
- **Sutour S, 2011**, Etude de la composition chimique d’huiles essentielles et d’extraits de menthe de Corse et de Kumquats,” *Universite de Corse, Corse*.

Taalbi A, 2016, Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrane) de l’ouest algérien. *Mémoire master, Université Abou bekr belkaid – Tlemcen. Fac. des sciences* ,60P.

- **Thanan, R., Oikawa, S., Hiraku, Y., Ohnishi, S., Ma, N., Pinlaor, S., Murata, M, 2014**, Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer, *International journal of molecular sciences*, 16, 193-217P.
- **Tranchant J., Vergnol A., Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Witier P, 1995**, Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse, *Edition Masson, Paris*, 700p
- **Twindell E.,K.,WagnerJ.J.et Thiex NancyJ, 2007**, Une a microbiologie Owen to determine Moisture Content of Forages Exex ,8077P.

Vernin G., et Lageot C, 1992, Couplage CPG/SM pour l’analyse des arômes et des huiles essentielles, *Analysis*, vol. 20, 34–39P.

Zhiri A, 2006, Aromathérapie : un peu d’histoire, *Natura News : Science, Nutrition*.