

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des sciences biologique

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (D04)

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

AFFANE Rahma

REBHI Houria

BERREZOUG Torkia

Thème

Caractérisation physico-chimiques des huiles essentielles d'*Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.* de la région de Tiaret, extraites par Hydro-distillation

Soutenu publiquement le 30/09/2020

Jury:

Présidente: M^{lle} NEHILA A

Encadreur: M^{lle} MEZOUAR Dj

Examineur: M^r YAZIT SM

Grade

MCB

MCB

MCB

Année universitaire 2019-2020

REMERCIEMENTS

Nous remercions notre bon Dieu qui nous a donné le courage et la patience de poursuivre nos études.

Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à notre promotrice **Dr Mezouar Djamila** de nous avoir encadré ainsi qu'elle a dirigé ce travail, nous la remercions pour ses aides, ses précieux conseils et orientations tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.

Nous tenons à remercier profondément notre présidente de jury **Madame Nahila A** qui nous fait l'honneur d'accepter de présider le jury.

Nous remercions également l'examineur **Monsieur Yazit SM** pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.

Enfin, Nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACE

Je dédie ce travail à mes très chers parents

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez,

Vous avez toujours été présents pour les bons conseils et pour mener à bien mes études.

A mes frères, Nourredine, Rachide, Yacine et Hichame, à mes sœurs Hanane et Narimane, à mes

amies Imane, Hakima, Souhila, Fatima, Hanane

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce projet de fin d'étude tout d'abord :

*A ma très chère **mère Fatma***

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu as donné depuis ma naissance, tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour ses enfants, tu m'as encouragé et soutenu tout long de mes études.

*A l'âme de **mon père***

*A mon cher **mari Miloud***

Du profond de mon cœur, je te dédie ce travail pour ton soutien moral et matériel, ta gentillesse et ton encouragement durant toute cette période.

*A ma belle-mère **Miriam** et toute la famille*

*A mes frères **Miloud, Ahmed et Mohamed***

*A mes très chères sœurs **Khaldia et Khadidja**.*

*A mes nièces **Youcef et Wissem***

R.F.H.M.A

Dédicace

A MA GRAND MÈRE MAGHNIA .

A mes très chers parents qui n'ont jamais cessé de m'encourager, que Dieu les protège

A mes très chers frères Cheikh, Khaled, Abd Elhadi, Salah .

A mes très chères sœurs Zahra, Kheira, Bakhta, Amina Belhadje, Fatima et leurs maris et leurs enfants : Wissale, Ahmed, Marwa, Khaled, Mohamed, Yacine, Adel, Zahra, Mostapha, Adem.

A mes amies Rachida, Silina, Dalila, Amina, Bakhta, Samira .

A tous mes amis

A tous ceux que j'aime, et tous ceux qui m'aiment

Je dédie ce modeste travail

REBHI HOURIA

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

DPPH : 2,2-Diphényl-1- picryl-hydrazyl

HE : Huile essentielle

OMS : Organisation Mondiale de Santé
AFNOR : Association Française de Normalisation

DPPH : 2,2-Diphényl-1- picryl-hydrazyl

HE : Huile essentielle

IA : Indice Acide

IC : Concentration d'inhibition

IE : Indice Ester

IP : Indice Peroxyde

IS : Indice Saponification

OMS : Organisation Mondiale de Santé

Abs: absorbance

d₂₀:densité relative 20°C

R HE : rendement huile essentielle

N : la normalité

ISO : organisation internationale de normalisation

Liste des figures

Figure 01. Feuilles et graines d' <i>Apium graveolens L.</i>	8
Figure 02. Feuille de la menthe pouliot (<i>Mentha pulegium L.</i>).....	9
Figure 03. Carte géographique de la station de la wilaya de Tiaret Ain Dheb.....	12
Figure 04. Carte Géographique de la station de Sidi Wadeh.....	12
Figure 05. Montage hydrodistillation (photo original)	13
Figure 06. Réfractomètre (photo originale).....	16
Figure 07. Pycnomètre (photo originale).....	17
Figure 08. Méthode en milieu gélosé.....	18
Figure 9. Plaque à 96 puits.....	20
Figure 10. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.....	27

Liste de tableaux

Tableau 1. Produits et matériel utilisés dans l'étude.....	7
Tableau 2. Classification botanique d' <i>Apium graveolens L.</i>	8
Tableau 3. Classification botanique de <i>Mentha pulegium L.</i>	10
Tableau 04. Caractéristiques des stations d'étude.....	11
Tableau 5. Caractéristiques organoleptique des huiles essentielles extraites.....	22
Tableau 6. Résultats de l'indice de réfraction des huiles essentielles de <i>Mentha pulegium L.</i> et <i>Apium graveolens L.</i>	23
Tableau 7. Résultats de la densité relative de l'huile essentielle de la <i>Mentha pulegium L.</i> et <i>Apium graveolens L.</i>	24
Tableau 8. Valeurs des indices chimiques (IA, IE, IS, IP) calculées dans les différentes régions.....	25
Tableau 9. Activité anti-oxydante d' <i>Apium graveolens L.</i> et <i>Mentha pulegium L.</i>	27

Sommaire

Introduction générale.....	1
Matériel et Méthodes.....	6
I. Objectif d'étude et matériel utilisé.....	7
II. Matériel végétal.....	7
II.1. Céleri (<i>Apium graveolens L.</i>).....	7
II.1.1. Taxonomie.....	8
II.1.2. Usage alimentaire.....	8
II.1.3. Usages médicinales des graines de céleri.....	8
II.2. Menthe pouliot (<i>Mentha pulegium L.</i>).....	9
II.2.1. Taxonomie.....	10
II.2.2. Propriétés et utilisations.....	10
II.3. Provenance et récolte du matériel végétale.....	10
II.3.1. Localisation géographique des stations d'étude.....	11
II.3.1.1. Station 01 : Ain Dheb.....	11
II.3.1.2. Station 02 : Sidi Wadeh-Mellakou.....	11
III. Dispositif expérimental.....	13
III.1. Extraction des huiles essentielles par hydro- distillation.....	13
III.1.1. Mode opératoire.....	13
III.2. Calcul du rendement.....	14
III.3. Analyse physico-chimique.....	14
III.3.1. Indice chimique.....	14
III.3.1.1. Indice d'acide (IA).....	14
III.3.1.2. Indice d'ester (IE).....	14
III.3.1.3. Indice de saponification.....	15
III.3.1.4. Indice de peroxyde.....	15

III.3.2. Indices physiques.....	15
III.3.2.1. Indice de réfraction.....	16
III.3.2.2. Densité relative à 20°C.....	16
III.4. Evaluation de l'activité anti-oxydante DPPH.....	17
III.5. Evaluation antimicrobienne.....	18
III.5.1.Méthode en milieu gélosé (milieu solide).....	18
III.5.2. Micro-atmosphères.....	19
III.5.3. Aromatogramme.....	19
III.5.4.Méthode en milieu liquide.....	20
IV. Résultats et Discussion	
IV. 1. Caractéristiques organoleptiques.....	22
IV. 2. Rendement des huiles essentielles	22
IV. 3. Caractéristique physico-chimiques des HES.....	23
IV. 3. 1. Propriétés physiques.....	23
IV. 3. 1. 1. Indice de réfraction	23
IV. 3.1.2. Densité relative.....	23
IV.4. Propriété chimique.....	24
IV.5. Activité anti-oxydante.....	25
IV.5.1.Test DPPH mesuré au spectrophotomètre	26
IV.5.2. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH.....	27
IV.5. Activité antimicrobienne.....	28
Conclusion générale.....	30
Références bibliographique	

Introduction

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'homme a compté sur les plantes pour se soigner, se nourrir et aussi pour se parfumer. Ces plantes sont utilisées sans connaître leurs propriétés. Au cours des siècles, l'homme par expériences et son intelligence, il a obtenu un savoir important des vertus médicinales de ces plantes (**Boullard, 2001**). Il est à signaler que plus de 80% de la population mondiale sont basés sur les plantes médicinales pour se soigner. La majorité des médicaments chimiques sont le résultat de la recherche sur ces plantes (**D'Hennezel, 2015**).

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS) "une plante médicinale est une plante qui contient, dans un ou plusieurs de ses organes, des substances qui peuvent être utilisées à des fins thérapeutiques, ou qui sont des précurseurs de la chimio-pharmaceutique hémisynthèse (**Mascret, 2010**).

La médecine des plantes est la phytothérapie qui consiste à l'utilisation de totum de la plante entière, c'est-à-dire l'ensemble de la plante. Comme le disait Avicenne (980-1037) "le tout est plus grand que la somme des parties" (**Solange, 2019**).

L'utilisation d'une partie de la plante est l'aromathérapie qui est une branche de la phytothérapie. L'aromathérapie (en latin le mot aroma c'est-à-dire : odeur de certaines huiles essentielles ou acide volatile. Et du Grèce le mot thérapie c'est à dire traitement ou bien se soigner par des extraits aromatiques des plantes (**Festy, 2014**).

Les huiles essentielles sont nommées essence ou essences aromatiques végétales, le terme « huile » signifié la propriété de la solubilisation dans les graisses, et l'odeur de la plante productrice dégagée désigne le terme essentielle (**Michel Lardry et Haberkorn, 2007**).

L'huile essentielles est un produit complexe naturel et une molécule volatile et odorante dite un métabolite secondaire sécrété par les plantes aromatiques (**Bouyahya et al., 2018**). Lorsque vous aimez l'odeur d'un ou des parties d'une plante, vous aimez l'odeur de leurs huiles essentielles (**Festy, 2014**) qui sont localisées dans les fleurs, les feuilles, l'écorce, les racines ... (**Kaloustin et Hadj-Minaglou, 2012**). Les HES sont bio-synthétisées par les plantes mais en quantité infime seulement chez les plantes aromatiques que la quantité produite est suffisante (**Michel Lardry et Haberkorn, 2007**).

L'histoire des huiles essentielles est apparue en Egypte pour honorer les dieux, les pharaons parfument le corps pour camoufler les mauvaises odeurs corporelles (**Kaloustin,**

Hadj-Minaglou, 2012). Et d'embaumer des morts, aussi elles sont utilisées pour l'hygiène quotidienne depuis 3000 ans avant J.-C (**Mariani et Bozec, 2016**).

Chez les arabes, le savant **Abu Ali Al Husayn Ben Abdullah Iben Sina** ; parmi ses ouvrages majeurs le canon de la médecine, une encyclopédie médicale qui décrit entre autres la propriété thérapeutique des médicaments et leur fabrication (**Huete, 2012**). A l'époque romaine l'aromathérapie apparue en Europe et aussi en France (**Mariani et Bozec, 2017**).

Depuis 1930, toute pratique médicinale utilise les huiles essentielles est nommée l'aromathérapie selon le chimiste **René Maurice Gattefossé (Kaloustin, Hadj-Minaglou, 2012)**. C'est accidentellement qu'il découvrit les propriétés de guérison de la lavande après s'être brûlé lors d'une de ses expériences, le seul liquide qu'il avait à sa portée était une cuve remplie de lavande, il plongea ses mains dans cette dernière et remarqua que ses brûlures guérissait très vite, sans laisser de la cicatrice (**Eberhard, 2005**).

Aujourd'hui avec les progrès de la recherche scientifique, les huiles essentielles sont utilisées dans les spécialités pharmaceutiques, les produits cosmétiques et les parfums et comme agents de saveur en alimentation (**Kaloustin, Hadj-Minaglou, 2012**).

Parmi les techniques les plus utilisées dans l'extraction des HE ; la distillation à la vapeur d'eau c'est la méthode la plus ancienne. Ce procédé exigeant des hautes températures, ce n'est pas toutes les plantes peuvent s'adapter à ce procédé, la famille des labiées est la meilleur pour appliquer la distillation ; leurs molécules aromatiques qui se trouvent dans les feuilles peuvent être facilement distillées à la vapeur d'eau. Pour la distillation, les plantes sont préparées sous forme de coupures et presser dans un contenu sous l'influence de la chaleur, l'eau s'évapore en vapeur d'eau, cela passe par les plantes, faire charger les molécules aromatiques puis se passe par un serpentín réfrigérant. A la surface de l'eau de la distillation se forme l'hydrolat qui possède des propriétés d'une importance cosmétique et pâtisserie. Parmi les hydrolats les plus connus : les eaux de rose et la fleur d'oranger (**Huete, 2012**).

Les HE sont généralement à la température ambiante liquides, volatiles, odorantes, inflammables, d'une densité inférieure à 1. Et insolubles dans l'eau et solubles dans des solvants organiques et des huiles végétales (**Bouyahya et al., 2018**).

Les huiles végétales n'ont pas la spécificité de se volatiliser et sont d'un constituant à 100% de matières grasses. Par contre, les HES sont composées de nombreuses molécules actives non grasses, volatiles et odorantes très concentrées (**Festy, 2014**).

Le principal rôle des HES dans la physiologie des plantes jusqu'à présent, il est mal connu. Il a été trouvé qu'elles attirent les animaux qui propagent les graines et la pollinisation, faire disparaître les herbivores, un moyen de protection contre toutes phytopathogène (**Bouhdid et al., 2012**).

Elles sont le résultat de la sécrétion élaborée des plantes reproductrices extraites dans les structures spécialisées (poches, canaux sécréteurs et poils) (**Kanko et al., 2004**).

Les huiles essentielles sont composées de différentes molécules aromatiques qui sont plus ou moins présentes en fonction de l'huile, il est très important de connaître la composition d'une huile essentielle avant de l'utiliser. La composition biochimique d'une huiles essentielle est très complexe qui lui donne leur propriété, composée de centaines de molécules biochimiques étant : les cétones (est dérivée d'un alcool par oxygénation certaines cétones peuvent produire des effets indésirables lorsqu'elles sont prises par voie orale, les HES qui contiennent de grandes quantités de cétones sont la menthe poivrée et le romarin...), les esters (sont une combinaison d'un acide et d'un alcool, ont des propriétés antispasmodiques et calmantes certains sont également antifongiques, les huiles essentielle à très haute teneur en esters est la camomille romaine), les alcools (se trouve dans de nombreuses huiles essentielles, structurellement ils ont un groupe hydroxyle attaché à l'un de leur atomes de carbone), les éthers (ou phénylpropanoïdes se trouvent dans certaines huiles essentielles courantes comme cannelle feuille et fenouil sont moins agressifs pour la peau), les oxydes (en aromathérapie un oxyde a un atome d'oxygène dans une chaîne de carbones qui forme un cycle non aromatique ; l'oxyde le plus courant est le cinéole qu'il est un agent anti-inflammatoire), les terpènes (la plus grande classe de composés trouvés dans les HES, les terpènes les plus simples sont les monoterpènes) (**Buckle, 2015**).

Les HES ont la propriété de détruire des mauvaises bactéries. Ça signifie que l'utilisation des antibiotiques sera évitée à la présence d'une alternative (**Mariani et Bozec, 2017**).

Elles sont capables de désactiver les microbes. Différentes études montrent que les HES peuvent attaquer les microbes les plus intenses, tel que le bacille typhique (typhoïde), le bacille de Koch (tuberculose) et le staphylocoque. L'effet des huiles essentielles ne se rend

pas moins efficace par le temps : il reste stable car il y a pas une adaptation d'organisme humain aux principes actifs après chaque application (**Burozo, 2008**).

Ces produits naturels ne sont pas toujours une source de bienfaits et tous biens tolérés, elles peuvent introduire des allergies ou des provocations toxiques (**Bourrain, 2013**).

On s'est intéressé aux deux espèces de la famille des Apiacées et Lamiacées qui sont des familles des plantes aromatiques source des huiles essentielles.

La famille des Apiacées anciennement nommées Umbellifères, regroupe près de 3000 espèces, sur le plan botanique c'est une famille homogène. Cette famille reconnue facilement grâce au côté distinctif des fleurs. Certaines espèces d'Apiacées sont toxiques soit par voie cutanée soit par voie orale. D'autres espèces sont alimentaires tel que le céleri (**Durand et al., 2007**).

Les Apiacées sont répandues sur notre planète, elles sont riches en HES et utilisées comme aromates, certaines plantes appartenant à cette famille ont des propriétés thérapeutiques (**Buronzio, Schnebelen, 2012**).

Céleri (*Apium graveolens* L.) une plante de la famille des Apiacées, on le trouve en Europe sous la forme sauvage et dans l'ouest de l'Himalaya en Asie. Le céleri est cultivé anciennement en Grèce et en Egypte comme plante d'intérêt médicinale. Actuellement, le céleri est cultivé partout dans le monde (**Grubben, Denton, 2004**).

On distingue plusieurs variétés de cette plante :

Apium graveolens var. *graveolens*, correspondant au céleri sauvage ou céleri des marais ;
Apium graveolens var. *rapaceum*, l'*Apium graveolens* L. appartient à la famille des Apiaceae (ombellifères), de l'espèce eum (MILL.) GADU. ou céleri-rave,

Apium graveolens var. *dulce* (MILL.) ou céleri branche;

Apium graveolens var. *secalinum* ALEF. ou céleri à couper (**Eberhard, 2005**).

Dans le dialecte algérien, *Apium graveolens* est appelé "kraphesse". Depuis la Grèce antique et l'Egypte, il a été considéré comme un légume fort apprécié dans la Rome classique. Son utilisation comme plante médicinale est déjà mentionnée comme médicament dans l'ordonnancement rural de Charlemagne (capitulaires de Villis) (**Eberhard, 2005**).

La culture de céleri se fait dans les sols riches en matières organiques, calcaires légers. Le climat idéal est humide pluvieux, ensoleillé à semi-ombragé. Les semis se font de janvier à

mars en serre à température de 16C°. La récolte se fait de septembre à octobre (**Eberhard, 2005**).

La plante d'*apium graveolens L.* se compose de différentes parties et chaque partie contient une quantité précise d'huile essentielle : la racine tubérisée entre (0.01 % et 0.15%), la feuille entre (0.1% et 0.8%), le fruit entre (1.9 % et 3 %) (**Eberhard, 2005**).

Le céleri est cultivé aussi pour ses graines qui produisent une huile volatile, d'une importance dans le domaine de l'industrie des parfums et en pharmacutique. Ses graines fournissent des composants d'activité antioxydante, anti-moustique et antifongique, utilisées aussi dans l'élimination de l'acide urique pour soulager les douleurs et les symptômes liés aux rhumatisme, l'inflammation des articulations et l'arthrose (**Grubben, Denton, 2004**).

La famille lamiaceae anciennement appelées labiées, les huiles essentielles de cette famille sont les plus célèbres comme la menthe (mentha), les lamiacées ont des vertus thérapeutiques caractérisés par des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anti-infectieuses et antispasmodiques (**Buronzo, Schnebelen, 2012**).

Menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*) est l'une des plantes vivaces, se trouve dans les pays qui bordent la méditerranéen, l'Europe et quelques régions d'Asie (**Hmiri et al., 2013**). La multiplication de la plante se fait par semis au printemps ou par division des racines réalisée à l'automne ou en printemps, les sols humides, acides et sablonneux sont préférés par la plante *Mentha pulegium L.* mais elle est très sensible au gel (**Eberhard, 2005**).

Elle a des effets antibactériens, antifongiques et analgésiques. Leur HES sont employées en médecine traditionnelle pour leur effet antiseptique pulmonaire et pour soigner les affections gastriques (**Hmiri et al., 2013**). Elle est connue comme un expectorant, un sédatif de la toux, un adoucissant des angines, des pharyngites et de l'appareil respiratoire. Ses huiles essentielles sont des fortes mucolytique (**Hammiche, 2014**).

La Menthe pouliot parmi ses vertus médicinales est antispasmodique, rafraichissante, laxative. On l'utilise contre la toux, la rhume et maux d'estomac (**Miara et al., 2013**).

L'Algérie abrite une réserve d'espèce à base de plantes. Afin de valoriser notre patrimoine végétal et créer une banque de données nous nous sommes intéressées à l'extraction des huiles essentielles par procédé d'hydrodistillation puis faire les contrôles physicochimiques des deux plantes aromatiques et médicinales qui appartiennent à la famille de *Lamiaceae* et *Apiaceae* à savoir *Mentha pulegium L.* et *Apium graveolens L.* par ordre.

Ce travail de mémoire s'inscrit dans le cadre pour valoriser les extraits volatiles aromatiques (les huiles essentielles) de ces deux plantes.

Ce mémoire est divisé en quatre parties :

La première partie est consacrée aux généralités sur les huiles essentielles et la description des deux plantes;

La deuxième partie est réservée au matériel et méthodes utilisés;

La troisième partie est la discussion des résultats obtenus;

Enfin, cette étude est terminée par une conclusion générale.

Matériel et méthodes

I. Objectif d'étude et matériel utilisé

Le but de notre travail consiste à évaluer les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles issues des deux plantes étudiées ainsi que de déterminer l'activité anti-oxydante et antimicrobienne de ces huiles.

Dans ce chapitre nous allons présenter les différentes méthodologies et matériaux utilisés pour le travail expérimental de l'extraction de l'huile essentielle à partir de deux espèces végétales à savoir le Céleri (*Apium graveolens L.*) et la menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*).

Remarque

Le travail expérimental malheureusement il n'était pas réalisé à cause de la pandémie du Covid-19.

Les produits et le matériel utilisés dans notre étude sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 1. Produits et matériel utilisés dans l'étude.

Appareillages	Verreries	Produits
– Etuve	– Entonnoir	– Eau distillée
– Réfrigérateur	– Béchers	– KOH
– Balance électrique	– Ampoule à décanter	– Ethanol
– Chauffe ballon	– Fioles jaugées	– HCL
	– Ballon en verre	– Chloroforme
	– Réfrigérant	– Acide acétique
		– Phénolphtaléine
		– Thiosulfate de potassium

II. Matériel végétal

II.1. Céleri (*Apium graveolens L.*)

Apium graveolens L. est une plante appartenant à la famille des Ombellifères, on la trouve dans les régions salines de l'hémisphère Nord. Elle se cultive depuis le Moyen Age. Elle est utilisée dans la cuisine comme plante condimentaire (branches et graines) du fait de son arôme et sa saveur. Elle est appelée communément le "Céleri". La plante bisannuelle forme une rosette de feuilles basales la première année et ne fleurit que la seconde année; elle peut atteindre jusqu'à 1m d'hauteur (**Jordan, 1989**) (Figure 1 et Tableau 2).



Figure 1. Feuilles et graines d'*Apium graveolens L*

II.1.1. Taxinomie

Tableau 2. Classification botanique d'*Apium graveolens L.* (Jay, 1967).

<i>Apium graveolens L</i>	
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionta</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Rosidae</i>
Ordre	<i>Apiales</i>
Famille	<i>Apiaceae</i>
Genre	<i>Apium</i>

II.1.2. Usage alimentaire

Le céleri (rave et feuille) est utilisé dans les préparations culinaires comme condiment et comme légume. Il est allergène pour certaines personnes. Le céleri est très peu calorique (29 kilocalories pour 100 grammes). Selon certains auteurs, sa digestion consomme plus de calories que l'aliment n'en apporte (Azdia et Tayeb Pacha, 2015).

II.1.3. Usages médicinales des graines de céleri

En médecine populaire, le fruit n'est utilisé qu'occasionnellement comme stomachique et carminatif en cas de douleurs digestives comme diurétique en cas d'affections vésicales et rénales ainsi qu'en cas de douleurs arthritiques et rhumatismales (Azdia et Tayeb Pacha, 2015).

II. 2. Menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.)

Mentha pulegium L. est de la famille des Lamiacées (Lamiaceae) ou Labiacées (Labiatae), est une plante vivace, pubescente, couchée, parfois dressée de petite taille à taille moyenne (10 à 30 cm de hauteur et 45 cm de largeur) radicante, généralement poilue, à tiges florifères dressées, fortement aromatique à odeur piquante avec des petites feuilles étroites elliptiques à ovales, à peine dentées, à pétiole court, souvent poilues au revers avec des bractées foliacées. 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), la *Mentha pulegium* L. est très abondante et pousse spontanément en Algérie (Quézelet et Santa, 1963). (Figure 02 et Tableau 3).



Figure 2. Feuille de la menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.)

II.2.1. Taxinomie

Tableau 3. Classification botanique de *Mentha pulegium* L (Guignard et Dupont, 2004)

<i>Mentha pulegium</i> L.	
Règne	<i>Végétal</i>
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Sous-embranchement	<i>Angiospermes</i>
Classe	<i>Dicotrylédones</i>
Sous-classe	<i>Gamopétales</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Labiacées</i>
Genre	<i>pulegium</i>

II.2.2. Propriétés et utilisations

La menthe pouliot figure parmi les plantes les plus communément utilisées en médecine traditionnelle. Elle stimule les sécrétions gastriques, réduit les flatulences et les coliques, et combat les fermentations. C'est l'une des meilleures boissons digestives, bénéfiques en particulier à ceux qui souffrent d'insuffisance hépatique, et élimine les vers intestinaux. Elle fait baisser la fièvre, favorise la sécrétion des muqueuses et constitue un bon remède contre les maux de tête et les infections respiratoires bénignes. En infusion, la menthe pouliot apaise les démangeaisons et la sensation de picotement, les inflammations cutanées, tel l'eczéma, et le rhumatisme et la goutte. En plus elle est utilisée contre les maladies des yeux (éclaircir la vue); et contre les taches de rousseur (Talahagcha et Kassa, 2008).

II.3. Provenance et récolte du matériel végétale

Nos plantes le céleri (*Apium graveolens* L.), et la menthe pouliot (*Mentha pulegium* L.) proviennent de 02 stations de la wilaya de Tiaret (Mellakou et Ain Dheb).

Après la cueillette nos échantillons sont nettoyés, étalés et séchés pendant 15 semaines dans des conditions bien précises et respectées :

-A l'abri de l'humidité;

-A l'abri de la lumière; -A une température ambiante, et dans un endroit bien aéré et seulement la partie aérienne (les feuilles) qui est utilisée.

II.3.1. Localisation géographique des stations d'étude

La végétation en Algérie est directement touchée par les facteurs géographiques; ces facteurs sont: le sol et l'altitude, le climat (vent, précipitation, radiation, solaire et la températureect), aussi l'équilibre délicat de tous ces facteurs est très important pour le développement individuel des plants et leur distribution (**Beniston, 1984**).

La végétation est très diversifiée de la région de Tiaret. Dans cette région, nous notons la présence de nombreux endroits au niveau des montagnes et sur le bord des vallées.

II.3.1.1. Station 01 : Ain Deheb

La daïra d'Ain Deheb située au sud de la wilaya de Tiaret à 63 Km (**Figure 03**).

II.3.1.2. Station 02 : Sidi Wadeh-Mellakou

Elle se trouve au sud de la ville de Tiaret à 15 km de la commune de Mellakou, cette région est la seule distraction pour les habitants de la ville ainsi pour les wilayas limitrophes Djelfa, Tissemsilt, Laghouat. (**Figure 04**)

Les différentes stations sont décrites dans le Tableau 04 :

Tableau 04. Caractéristiques des stations d'étude

Station	Localisation	Etage bio climatique	Altitude (m)	Altitude (nord)	Longitude (ouest)
Ain Deheb	Bassin de Tiaret	Semi-aride-chaud	1110	34.50	1.32
Sidi Wadeh	Montes de Tiaret	Semi-aride	918	35.15	1.14

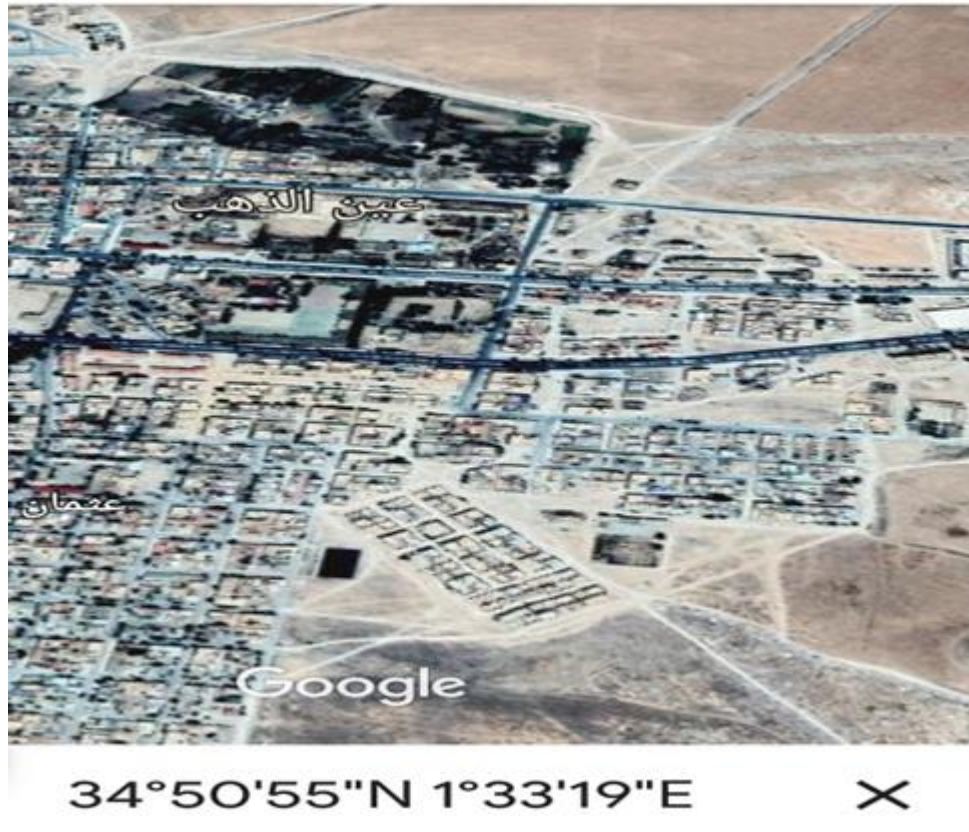


Figure 03. Carte géographique de la station de la wilaya de Tiaret Ain Deheb (Google Earth, 2020).



Figure 04. Carte Géographique de la station de Sidi Wadh (Google Earth, 2020).

III Dispositif expérimental

III.1. Extraction des huiles essentielles par Hydro-distillation

L'extraction des huiles essentielles des deux espèces *l'Apium graveolens L.* et la *Mentha pulegium L.* a été effectuée par hydro-distillation (**Figure 5**).

L'hydro-distillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles.



Figure 5. Montage Hydro-distillation (photo original)

III.1.1. Mode opératoire

L'opération consiste à introduire 30 g de matériel végétal (feuilles, graine), broyés dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube vertical, puis dans le réfrigérant où aura lieu la condensation. Les gouttelettes ainsi produites s'accumulent dans le tube rempli auparavant d'eau distillée. En raison de la différence de densité, l'huile essentielle surnage à la surface de l'eau.

L'extraction a été réalisée au niveau du laboratoire des Sciences alimentaires de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Ibn Khaldoun, Tiaret.

Les huiles essentielles récupérées sont conservées dans des tubes bien fermés, en verre ombrés, à l'abri de la lumière et stockés à 4°C jusqu'à l'utilisation.

III.2. Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement d'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 :

$$R_{HE} = M_{HE}/M_s * 100$$

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. Analyse physico-chimique

III.3.1. Indice chimique

Pour la détermination des chimiques tels que : l'indice d'acide, d'ester, saponification et peroxyde. on a utilisé des méthodes qui sont également conformes aux normes AFNOR .

III.3.1.1.Indice d'acide (IA)

C'est le nombre de milligramme d'hydroxyde de potassium KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres connus dans 1g d'huile essentielle (**NF ISO 11242/1999(T75-103)**).

L'indice d'acide (IA) est calculé par la formule suivante:

$$IA = V \times C \times 56.11/m$$

V : le volume de la solution d'hydroxyde de potassium KOH utilisé pour le titrage (en millilitres).

C : la concentration exacte de ma solution de KOH (en mole par litre)

m : la masse d'HE (en gramme)

56.11 g/mol = la masse moléculaire du KOH

III.3.1.2. Indice d'ester (IE)

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par l'hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile essentielle, la potasse réagit avec les esters selon une réaction dite "saponification" (**ISO, 2001**).

L'indice d'ester est donné par la relation suivante:

$$IE=28.05 (V-V_0) /m$$

V : Volume en ml de HCl utilisée dans cette détermination.

V₀ : Volume en ml de HCl utilisée dans cette détermination à l'essai a blanc.

m : la masse de la prise d'essai

III.3.1.3. Indice de saponification (IS)

L'indice de saponification est le nombre de mg de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les esters présents dans 1g d'huile essentielle (ISO, 2001).

Il existe une relation entre ces trois indices :

$$IS = IA + IE$$

IA : Indice acide

IE : Indice ester

III.3.1.4. Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde est le nombre de milliéquivalent d'oxygène par kilogramme de corps gras qui oxydent l'iodure de potassium avec libération d'iode. En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés entrant dans la composition des essences s'oxydent en donnant des peroxydes (ISO, 2001).

L'indice de peroxyde est donné par la formule suivante :

$$IP = [(V_0-V) \times 10] / P \text{ (még. O}_2 \text{ /kg d'H.E)}$$

V : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai

V₀ : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'essai à blanc

P : prise d'essai en gramme

III.3.2. Indices physiques

Les méthodes utilisées pour la détermination de l'indice de réfraction à 20 °C et la densité relative à 20°C sont conformes aux normes AFNOR .

III.3.2.1. Indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (ISO280/1998). Elle est mesurée à 20°C par le réfractomètre (Kaloustin et Hadj-Minaglou, 2012). (Figure 5).

L'indice de réfraction est calculé selon la formule suivante (AFNOR, 2000):

$$n(t)=n(t)+0.0004 (t'-t)$$

$n(t)$: valeur de lecture obtenue à la température t'

t' : température en °C de l'échantillon

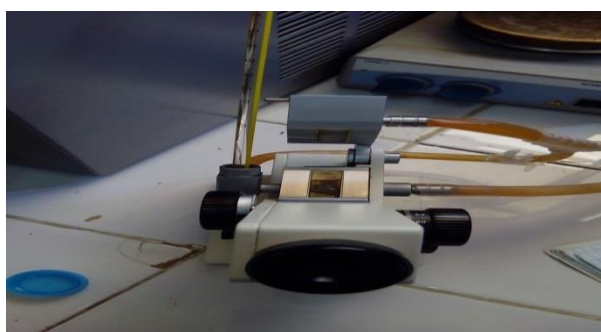


Figure 6. Réfractomètre (photo originale).

III.3.2.2. Densité relative à 20°C

La densité relative est le rapport de la masse d'un certain volume d'une huile essentielle à 20 °C, à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20 °C (ISO 279 : 1998)

(Figure 6).

La densité relative est calculée selon la formule suivante :

$$d_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m_0 : la masse du pycnomètre vide (en gramme)

m_1 : la masse du pycnomètre rempli d'eau (en gramme)

m_2 : la masse de pycnomètre rempli d'HE (en gramme)



Figure 7. Pycnomètre (photo originale).

III.4. Evaluation de l'activité antioxydante DPPH

L'activité antioxydante est la capacité d'un composé à résister à l'oxydation, les antioxydants les plus connus sont provitamine A (B-carotène), vitamine C (l'acide ascorbique), vitamine E (le tocophérol) et les composés phénoliques. La plupart des antioxydants naturels ou synthétiques contiennent des groupes hydroxyphénoliques dans leurs structures, la capacité de ces composés naturels à piéger les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH.) et superoxydes (O-2). Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante : tels que la méthodes de test au radical libre DPPH (**Popovici et al., 2009**).

Parmi les méthodes utilisées pour l'évaluation de l'activité anti-oxydante des extraits est la méthode DPPH. Le DPPH c'est le radicale le plus stable (**Mansouri et al., 2003**), ce radical a une couleur violette, il perd sa coloration quand il réagit avec des substances antioxydantes, qui transfèrent vers lui des protons ou des électrons (**Boubakeur et al., 2017**).

Le pourcentage du DPPH est calculé par cette formule suivante :

$$\% \text{d'inhibition} = ((\text{Abs c} - \text{Abs t}) / \text{Abs c}) \cdot 100$$

Abs c : absorbance du contrôle.

Abs t : absorbance de l'échantillon testé.

III.5. Evaluation antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles joue un rôle important dans la médecine alternative (Alloun, 2013), elle est compté par des agents antimicrobiens (agents physiques: la chaleur, le froid, les radiations électromagnétiques; les agents chimiques: les alcools, le phénol et ses dérivés ; les agents biologiques : HE, les enzymes) et d'autres méthodes (Alloun, 2013).

Les différents protocoles de l'évaluation antimicrobienne peuvent être classés selon Pribiri. 2005 en :

1. La nature de contact des huiles essentielles avec le germe (dispersion dans un émulsionnant ou diffusion sur disques, solution alcoolique);
2. Le milieu de la diffusion des huiles essentielles que ce soit, solide, liquide ou gazeux.

Parmi les méthodes de l'évaluation des activités antimicrobiennes on site les plus importants:

III.5.1. Méthode en milieu gélosé (milieu solide)

C'est la méthode de référence (Stéphane et al., 2015), on mesure le halo d'inhibition en "millimètres", nous produisons le milieu par des disques de papier filtre imprégné d'HE, ce dernier est mis dans le gélose ensemencée en boîte de pétri (Laurent, 2017) (Figure 7).

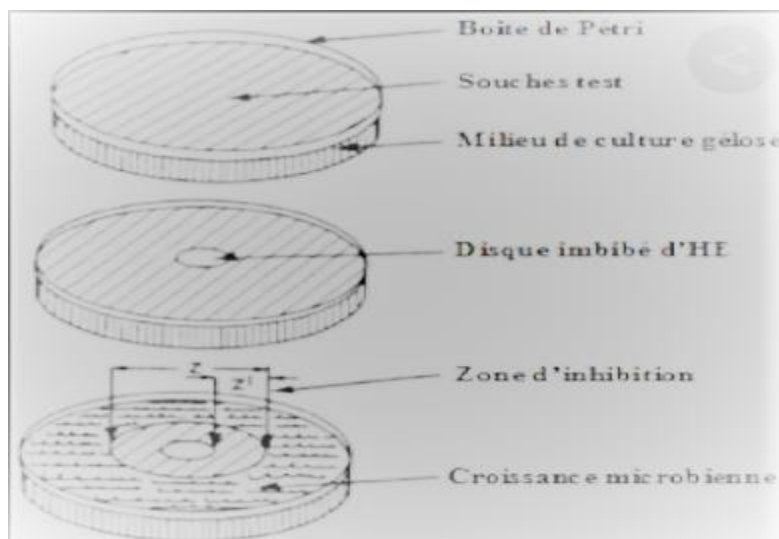


Figure 8. Méthode en milieu gélose

III.5.2. Micro-atmosphères

Le protocole de cette technique est proche de celle de la méthode en milieu gélosé, cette fois-ci la disposition du disque imprégné d'HE est dans le centre du couvercle de la boîte de pétri et sans contact avec la gélose, renversée la boîte de pétri pendant la durée de l'expérience et placée dans une étuve à 37°C (**Laurent, 2017**)

III.5.3. Aromatogramme

Le protocole des aromatogramme est techniquement proche de celle des micro-atmosphères, c'est une technique de mesure du pouvoir antibactérienne des HE chémotypées en milieu in vitro (**Stéphane et al., 2015**).

Le principe de cette méthode est de comparer les efficacités des HE entre elles (**Stéphane et al., 2015**).

Les avantages d'aromatogramme :

- Elle s'applique à un grand nombre d'espèces bactériennes;
- Elle consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des différents produits à tester (**Allouon, 2013**).

III.5.4. Méthode en milieu liquide

Cette méthode est divisée en 02 techniques soit: **(Stéphane et al., 2015)**.

1. En tube appelée macro-méthode en milieu liquide ;
2. En plaque à 96 puits (fond en U) appelée micro-méthode en milieu liquide (Figure 8).

Dans cette méthode une solubilisation des HE étudiée est réalisée par l'utilisation d'un agent émulsionnant qui ne doit pas interférer dans les résultats **(Laurent, 2017)**, cet agent émulsionnant doit répondre à 03 critères :

- N'avoir aucune action synergique antiseptique pour l'HE ;
- Être inerte chimiquement;
- Être inerte bactériologiquement **(Laurenti, 2017)**.



Figure 9. Plaque à 96 puits

Résultats et discussion

IV- Résultats et Discussion

Ce travail est fondé sur l'étude physico-chimique et l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des huiles essentielles de deux plantes médicinales *Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.*

IV.1 Caractéristiques organoleptiques

Le tableau suivant indique les caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles des deux plantes étudiées issues de l'hydrodistillation.

Tableau 5. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles extraites.

	<i>Apium graveolens L.</i>	<i>Mentha pulegium L.</i>
Aspect	Liquide	Liquide limpide et mobile
Couleur	Jaune claire	Jaune pâle
Odeur	Camphrée	Fraiche et forte
Référence	(Azdia et Tateb Pacha, 2016)	(Benazzouz et Hamdane, 2012)

IV.2 Rendement des huiles essentielles

Apium graveolens L.

Les résultats du rendement de l'extraction de l'huile essentielle des graines d'*Apium graveolens* faite par hydro-distillation sont différents en Algérie. Dans la région de Mostaganem, le rendement trouvé est de **1.95%** (Azdia et Tayzb Pacha, 2016). Au Maroc, une étude a montré un rendement de **1.4%** (Lboumhamdi *et al.*, 2018), d'autres résultats en Tunisie ont montré un rendement équivalent à **1,5%** (Baananou *et al.*, 2012). La variation du rendement d'HE est liée à plusieurs facteurs tels que : l'origine de la plante, leurs exigences climatiques, la génétique de la matière végétale, la période de récolte, la méthode de séchage de la plante, et le moyen d'extraction utilisé (Lboumhamdi *et al.*, 2018).

Mentha pulegium L.

Dans une étude réalisée dans la région de Bordj bou arreridj en Algérie, l'extraction des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* a donné un rendement de **0.64±0.01 %** (Abou et Fareh, 2017), d'autres résultats dans la région de Tizi-Ouzou ont marqué un rendement de **2.9%** (Benazzouz et Hamdane, 2012). D'autre part, une étude dans la région d'Ain Defla a révélé des rendements de **1.8%** de la plante *Mentha pulegium L.* récoltée durant le mois d'août et un rendement de **0.5%** de la plante récoltée durant le mois de mai. La variation des rendements est liée aux changements de climat et à la période de récolte (Taalbi, 2016).

IV.3 Caractéristique physico-chimiques des HES

Les propriétés physico-chimiques tels que : l'indice de réfraction, la densité relative, l'indice d'acide, l'indice d'ester, l'indice de peroxyde, ...etc., représentent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité des huiles essentielles. Plusieurs essais ont été faits sur les huiles essentielles de nos deux espèces étudiées (*Mentha pulegium L.*, *Apium graveolens L.*).

IV.3.1 Propriétés physiques

IV.3.1.1. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est un paramètre d'identification qualitative et un critère pour vérifier le degré de pureté des HES, il est supérieur à celui de l'eau à 20°C = 1.3356 (Attou, 2017). En plus, la plupart dévie la lumière polarisée.

Tableau 6. Résultats de l'indice de réfraction de l'HE de *Mentha pulegium L.* et *Apium graveolens L.*

	Indice réfraction	Région	Références
<i>Mentha pulegium L.</i>	1.461	Khemis Miliana	(Tahari et Saadou, 2015)
	1.465	Blida	(Brahim, 2018)
	1.486	Oran	(Lahrech, 2010)
<i>Apium graveolens L.</i>	1.314	Maroc	(El Mostaphi et al., 2017)

Les résultats de l'indice de réfraction de la *Mentha pulegium L.* obtenus à 20°C de toutes les régions du tableau sont conformes aux normes d'AFNOR (1.464 à 1.486). Par contre, l'indice de réfraction de l'*Apium graveolens L.* trouvé au Maroc est au-dessous de la norme d'AFNOR (1.31466).

Le degré d'instauration de l'huile est lié inversement à l'indice de réfraction ; plus l'indice de réfraction est faible plus l'huile essentielle est de bonne qualité (**Gracem et al., 1995**).

IV.3.1.2 Densité relative

La densité relative des huiles essentielles peut être considérée comme un critère de pureté (**Kaloustian et Hadj-Minaglou, 2012**). La densité est généralement inférieure à celle de l'eau.

Tableau 7. Résultats de la densité relative de l'huile essentielle de la *Mentha pulegiumL.* et *Apium graveolens L.*

	Densité relative	Région	Références
<i>Mantha pulegium L.</i>	0.974	Khemis	(Tahari et Saadou, 2015)
		Miliana	
	0.933		(Rahmi et Tounsin, 2017)
		Blida	
0.930	Bouira	(Brahim, 2018)	
<i>Apium graveolensL.</i>	0.872 ± 0.0002	Pologne	(Dąbrowska et al., 2020)

Les résultats de la densité trouvés par les différentes études de la menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*) sont de 0.930 à 0.974, et sont conformes à la norme donnée par AFNOR (1999) qui est de 0.9 à 2. Par contre, les résultats de l'*Apium graveolens L.* enregistrent une valeur inférieure à celle de *Mentha pulegium L.*, donc cette variation des valeurs indique la qualité des huiles essentielles.

IV.3.2 Propriété chimiques

Indices chimiques

Les méthodes utilisées pour la détermination des indices chimiques doivent également suivre les normes AFNOR.

Les indices chimiques calculés pour les deux plantes *Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.* sont l'indice d'acide, d'ester, de saponification et de peroxyde.

En ce qui concerne, l'indice d'ester de céleri (*Apium graveolens L.*) est remplacée par une valeur d'une plante de la même famille que le céleri, celle du persil (*Petroselinum Sativum*), le persil et le céleri sont de la même : sous-règne (Tracheobionta) ; division (Magnoliophyta); classe (Magnoliopsida) ; sous-classe (Rosidae) ; ordre (Apiales). L'extraction de l'huile essentielle de persil a été faite par hydrodistillation dans la région de Khemis Miliana (**Laama, 2015**).

Tableau 8. Valeurs des indices chimiques (IA, IE, IS, IP) calculés dans les différentes régions.

	IA	IE	IS	IP	Région	Référence
<i>Apium graveolens L.</i>	6.47	/	72.54	10	Maroc	(El Mostaphi et al., 2017)
<i>Petroselinum sativum</i>	/	5.531	/	/	khemis Miliana	(Laama, 2015)
<i>Mentha pulegium L.</i>	0.86	87.53	96.17	26.4	Khmis Miliana	(Tahari et al., 2015)
	2	70.105	/	/	Bouira	(Brahim, 2018)

L'indice d'acide (IA) indique le comportement de la quantité des acides libres présente dans les huiles essentielles, les valeurs trouvées dans les études précédentes sont dans les normes établies par AFNOR. Selon cette dernière, une faible quantité d'acides libres prouve une bonne conservation de l'extrait volatile (**AFNOR, 2000**).

En ce qui concerne l'indice d'ester, celui du Persil indique la valeur de 5.531. Et pour la menthe pouliot, les valeurs enregistrées dans les deux régions sont 87.53 à Khemis Miliana et 70.105 à Bouira.

L'indice d'ester est un indicateur de qualité des huiles, les huiles essentielles de très haute qualité contiennent une quantité importante d'esters. Cette indice peut être influencé par d'autres facteurs tels que les conditions dans lesquelles s'effectuent l'hydrolyse (c'est-à-dire dans quel type d'alambic, les constituants de l'eau utilisés pour le chauffage,...) (**Benini et al., 2010**).

L'indice de saponification de l'huile essentielle est le nombre de mg de potasse nécessaire pour neutraliser les acides libres et saponifier les esters présents dans 1 g d'huile essentielle. L'indice de saponification n'a pas d'unité (**Kaloustian et Hadj-Minaglou, 2012**). Les valeurs de l'IS trouvées sont 72.54 pour le céleri et 96.17 pour la menthe pouliot.

Selon les études faites, les valeurs de l'indice de peroxyde trouvées est de 10 pour le céleri et 26.4 pour la menthe pouliot. Plus l'indice est bas plus l'huile est fraîche, une mauvaise conservation d'une huile essentielle, en présence d'air et à température élevée, entraîne le vieillissement, en introduisant la formation de peroxydes (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

IV.4. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant des HES des deux plantes *Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.* a été testé par la méthode de DPPH (2,2-Diphényl picryl-hydrazyl) comme radical libre relativement stable. Dans ce test le DPPH° de couleur violette se réduit en un composé jaune DPPH-H, cette décoloration est faite à la présence d'un antioxydant, ce dernier donne un hydrogène donc la stabilisation du radical (Figure 10).

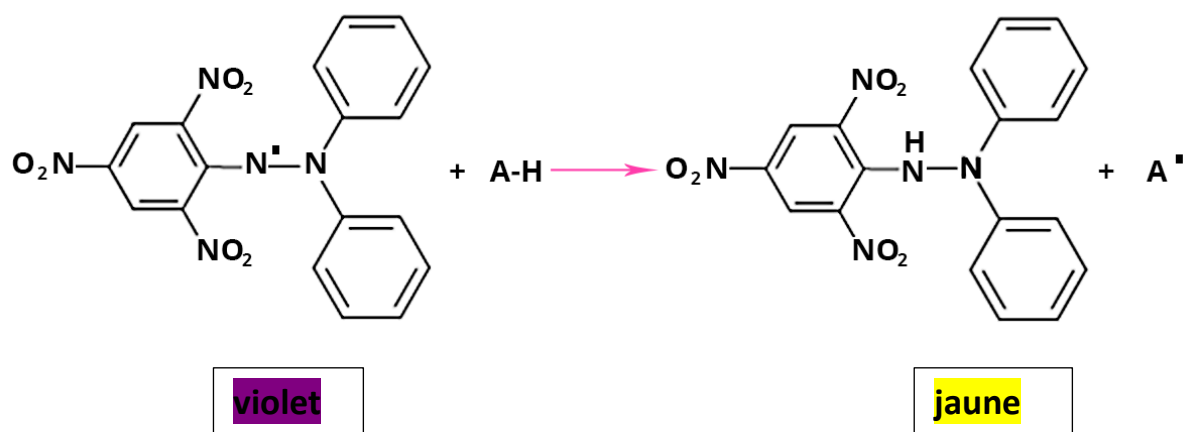


Figure 10. Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

IV.4.1. Test DPPH mesuré au spectrophotomètre

L'activité antioxydante des huiles essentielle d'*Apium graveolens L.* et de *Mentha pulegium L.* est faite par le test de piégeage du radical DPPH. Après le mélange de la solution de DPPH avec l'huile essentielle des espèces étudiées, cela donne la décoloration qui facilite la lecture dans le spectrophotomètre à 517 nm.

IV.4.2. Détermination du pourcentage de capture du radical DPPH

Les pourcentages de capture du radical DPPH (CR) ont été calculés par la relation suivante :
 % d'inhibition = $((Abs\ c - Abs\ t) / Abs\ c) \cdot 100$

Plusieurs résultats sont trouvés dans les différentes études représentés dans le tableau suivant :

Tableau 9. Activité anti-oxydante d'*Apium graveolens L.* et de *Mentha pulegium L.*

	<i>Apium graveolens L</i>	<i>Mentha pulegium L</i>
Concentration de l'huile essentielle	C= 2.5 g /L	C=0.05 g/L
Activité de piégeage du DPPH (CR)	34.19± 0.3	73.8
Concentration d'inhibition de 50 (IC50) g/L	89.11	21.52
Références	(Dąbrowska <i>et al.</i> , 2020)	(Taalbi, 2016)

Selon les résultats, les huiles essentielles d'*Apium graveolens*L. et *Mentha pulegium*L. ont une activité antiradiculaire, les huiles essentielles des deux plantes manifestent une activité antioxydante, ce pouvoir antioxydant des huiles essentielle est liée à la mobilité de l'atome H, à la présence d'un radical libre DPPH, qu'il va se transformer en molécule stable DPPH-H, ce qui provoque la diminution de la concentration du radical libre (Milardovic *et al.*, 2005). Le pourcentage de capture des radicaux libre augmente avec la concentration de diverses huiles essentielles (Berset, 2006).

IV.5. Activité antimicrobienne

Apium graveolens L.

Des recherches ont été faites sur l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'*Apium graveolens* L. ont démontré que le céleri a une activité antifongique très forte contre les souches de *Candida*, dermatophytes et *Aspergillus*. L'huile d'*Apium graveolens* L. est utilisée comme conservateur en stockage des produits en raison de sa capacité à inhiber la croissance d'*Aspergillus* (Marongiu *et al.*, 2012), et elle est active contre de nombreuses bactéries, à savoir *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Streptococcus faecalis*, *Sreptococcus pyogenes* et *Pseudomonas solanacearum*. Aucune activité n'a été observée contre *Escherichia coli* ou *Pseudomonas aeruginosa* (Atta et Alkofahi, 1998).

Mentha pulegium L.

Des résultats obtenus montrent que les huiles essentielles de *Mentha pulegium* L. possèdent des activités antimicrobiennes importantes sur la croissance des souches bactériennes et fongiques. L'extraits de la menthe pouliot inhibe totalement la croissance des deux fongiques *Alternaria alternata* et *Penicillium expansum* (Hmiri *et al.*, 2011). Les souches bactériennes testées montrent que les Gram (+) ont des zones d'inhibition plus grandes et des valeurs de concentration minimale inhibitrice plus faibles en comparaison aux souches Gram (-) donc les Gram (+) sont sensibles par rapport aux souches Gram (-). L'HE de *Mentha pulegium*L. a un effet important contre *Staphylococcus aureus*, elle est riche en pulégone (30- 70%), la pulégone est reconnue pour ses effet antibactériens divers (Barchan *et al.*, 2015). La pulégone est une cétone monoterpénique présente dans les feuilles et sommités fleuries de plusieurs membres de la famille de la menthe lamiaceae. La Pulégone est un constituant volatil majeur de l'huile essentielle de la menthe pouliot (Hayes *et al.*, 2007)

Conclusion

Conclusion

Au cours de la préparation de notre mémoire, le travail expérimentale été arrêté à cause de la pandémie de Covid-19, donc nous avons réalisé une synthèse bibliographiques des travaux antérieurs.

L'huile essentielle obtenue à partir d'*Apium graveolens L.* est un liquide d'une odeur camphrée et d'une couleur jaune claire selon les résultats trouvés dans la région de Mostaganem. Alors que celle de *Mentha pulegium* est un liquide mobile, d'une odeur fraîche et forte et d'une couleur jaune pâle dans la région de Tizi-ouzou.

Le rendement en huiles essentielles des deux plantes *Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.* selon les études faites donnent des valeurs variables d'une région à une autre, les valeurs les plus importants sont de 1.95% pour *Apium graveolens L.* dans la région de Mostaganem, et 2.9 % pour *Mentha pulegium L.* et dans la région de Tizi-ouzou.

L'analyse physico-chimique des huiles essentielles, extraites de ces plantes étudiées, montre que chaque plante possède ses propres valeurs qui représentent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité des huiles essentielles.

Pour l'indice de réfraction nous avons choisi les valeurs les plus faibles trouvées (plus l'indice de réfraction est faible plus l'huile essentielle est de bonne qualité), donc les valeurs d'*Apium graveolens L.* calculé au Maroc est de 1.314, pour *Mentha pulegium L.* 1.461 à Khemis Miliana.

Pour la densité d'*Apium graveolens L.* trouvée en Pologne est 0.872 ± 0.0002 (inférieure aux normes AFNOR), et pour *Mentha pulegium* est 0.933 dans Blida.

Les indices chimiques des deux huiles essentielles : indice acide, ester, saponification et peroxyde de la menthe pouliot faits à Khemis Miliana sont de 0.86, 87.53, 96.17 et 26.4 respectivement, concernant les indices du céleri sont l'indice acide 6.47, l'indice de saponification 72.54 et l'indice du peroxyde 10, trouvés au Maroc

Selon les résultats, les huiles essentielles des deux plantes *Apium graveolens L.* et *Mentha pulegium L.* sont de bonne qualité, elles ont aussi une activité biologique importante (anti-oxydante, antifongique antimicrobienne).

Références bibliographiques

Références bibliographique

1. B Boulland (2001). Plantes médicinales du monde réalités et croyances. Paris : ESTEM, 636p.
2. M D'Hennazel (2015). Les plantes pour tout guérir et pour Booster sa santé. Paris : Rustica, 112p.
3. F Solange (2019). Phytothérapie Minute les 94 plants incontournables pour soigner efficacement tous les maux du quotidien. Paris : contre-tires, 416p.
4. D Festy (2014). Les huiles essentielles ça marche. Paris : Leuduc S, 320p.
5. A bouyahya, J Abrin, Y bakri, N dakka (2018). Les huiles essentielles comme agents anticancéreux : actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*. 16(5): 254-267.
6. J Michel Lardry, V Haderkorn (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*. 17(61) : 14-15.
7. S Mariani, V Bozec (2016). Le petit atelier des huiles essentielles saison par saison se soigner naturellement en alliant efficacité et sécurité. *Aromalin*, 116p.
8. A Huete (2012). Les huiles essentielles pour tous les jours. *Artemis*, 224p.
9. S Bouhdid, J Abrini, D Baudoux, A Manresa, A Zhiri (2012). Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan : pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de pharmacie clinique*. 31(3) : 141-148.
10. C kanko, B EL-Hadj Sawaliho, S Kone, G Koukoua, Y Thomas N'Guessan (2004). Etude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de *Lippa multiflora*, *Cymbopogon citratus*, *Cymbopogon nardus*, *Cymbopogon giganteus*. *C. R. Chimie*. 7: 1039-1042.
11. A Burozo (2008). Grand guide des huiles essentielles. Italie : Hachette pratique, 256p.
12. J-L Bourrain (2013). Allergies aux huiles essentielles : aspects pratiques. *Revue française d'allergologie*. 53(S1) : 30-32.
13. M-F Durand, P Pommier, A Chazalette, L de Haro (2007). Intoxication par une apiacée sauvage : à propos d'une observation pédiatrique. *Arch pediatr*. 15(2) : 139-141.
14. A Buronzo, J Schnebelen (2012). Huiles essentielles. Italie : FIRST, 160p.

15. GJH Grubben, OA Denton (2004). Ressources végétales de l'Afrique tropicale 2 Légumes : Wageningen, Pays-Bas. PROTA Foundation, 737p.
16. J Kaloustin, F Hadj-Minaglou (2012). La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée, Paris : Springer, 210p.
17. S Hmiri, N Amrani, M Rahouti (2011). Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* et de *Tanacetum annuum L* vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. Acta Botanica Gallica. 158 (4) : 606-616.
18. V Hammiche (2014). Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle Kabyle. Phytothérapie. 13(6) : 358-372.
19. MD Miara, MA Hammou, SH Aoul (2013). Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). Phytothérapie. 11(4) : 206- 218.
20. H Azdia, N Tayeb Pacha (2016). Contribution à l'étude de l'effet de céleri (*Apium graveolens L*) sur les bactéries responsables des infections urinaires. Mémoire de Master 2 : pharmacognosie et phytothérapie. Université Abdelhamid Ibn Badise de Mostaganem, 51p.
21. A Benazzouz, A Hamdane (2012). Etude et analyse des plantes médicinales Algérienne : *Mentha pulegium L.*, *Mentha ratundifolia* et *Mentha spicata L.* Mémoire de Master 2 : chimie pharmaceutique. Université de Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou, 66p.
22. A Lboumhamdi, M Znini, J Costa, J Paolini et L Majidi (2018). Composition chimique et biocontrôle de l'huile essentielle des graines de céleri (*Apium graveolens*) contre botrytis cinérea après la récolte des pommes. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences. 2(9) : 292-300.
23. S Baananou, A Phrase, B Marongui, A Dessi, D Falconieri, S Pcedda, A Rosa, N Bougoughattas(2012). Antiulcerogenic activity of *Apium graveolens* seeds oils isolated by supercritical CO₂. African Journal of pharmacy and phaemacology. 6(10) : 756-762.
24. N Abou, k Fareh (2017).Activité antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* Mémoire de Master 2 : biotechnologie et protection des végétaux. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A, 39 p.

25. A Taalbi(2016). Variabilité chimique et intérêt économique des huiles essentielles de deux menthes sauvages : *Mentha pulegium* (Fliou) et *Mentha rotundifolia* (Domrance) de l'ouest Algérien. Mémoire de Master 2 : Molécules Bioactives, Synthèse et Application. Université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen, 50p.
26. A Attou(2017). Détermination de la composition chimique des huiles essentielles de quater plantes aromatiques de l'ouest Algérien (Région d'Ain Témouchent). Thèse de Doctorat : Substances Naturelles, Activités Biologiques et Synthèse. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 102p.
27. B Tahari et Z Saadou (2015). Détermination des propriétés organoleptiques et physicochimiques des huiles essentielles : *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Mentha pulegium* (lamiacees). Mémoire de Master 2 : Gestion Qualitative des productions agricoles. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, 73p.
28. M Brahim (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 : Génie Chimique. Université des sciences et de Technologie Houari Boumediene, 205p.
29. K Lahrech (2010). Extraction et analyse des huiles essentielles de *Mentha pulegium L* et de *Saccocalyx satureioides* : tests d'activités antibactériennes et antifongiques. Mémoire de Magister : chimie moléculaire. Université d'Oran Es Sénia, 93p.
30. AEI Mostaphi, M larouj, H Hartiti, M Marrahi, M Galai, M Ebn Touhami, H oudda, M, ouhssine(2017). Potential of celery (*Apium graveolens*) essential oil against the corrosion of carbon steel in 1.0 M HCl : electrochemical and quantum chemical study. Journal of Materials and environmental sciences. 9(11) : 3035-3048.
- 31.D Gacem, D Cherif, K Mekhtoui(1995). Evaluation de la qualité de l'huile d'olive à travers la wilaya de Tizi-Ouzou. Thèse de Magister : biochimie appliquée et biotechnologie. Université de Tizi-Ouzou.
32. A Rahmi, MN Tounsine (2017). Formation et étude de stabilité d'une émulsion cicatrisante à base de l'huile essentielle de la Menthe pouliot. Mémoire de Master 2 : génie de la formulation. Université de Blida1, 58p.

33. J Dąbrowska, A Kunicka-Stycryńska, K Śmigielski (2020). Biological, chemical, and aroma profiles of essential oil from waste celery seeds (*Apium graveolens*). Journal of essential oil research. 32(1) :1-8.
34. H Laama (2015). Etude de l'activité antibactérienne et antioxydante de l'huile essentielle de *Petroselinum sativum* de la région d'Ain Defla. Mémoire de Master 2: Génie pharmaceutique. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana, 85p.
35. AFNOR (2000). Huiles essentielles Association Française de Normalisation, Paris, 465p
36. C Benini, J-P Danflous, J-P Wathelet, P Jardin, M L Fauconnier (2010). L'ylang-ylang [*Cananga odorata* (Lam.) Hook. f. & Thomson] : Une plante à huile essentielle méconnue dans une filière en danger. Biotechnologie, Agronomie, Société et environnement BASE. 14(4) : 693-705.
37. C Popovici, I Saykave, B Tylkowski (2009). Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de Génie industriel. 4(1) : 25-39.
38. I Laib (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *lavandula officinalis* : application aux moisissures des légumes secs. Nature & technologie. 07 : 44-52.
39. S Milardovic, D Iveković, V Rumenjak, B Grabarić (2005). Use of DPPH^o/DPPH Redox couple for biampometric determination of antioxidant activity. Electroanalysis. 17(20) : 1847-1852.
40. B Marongiu, A Piras, S Porcedda, D Falconieri, A Maxia, M A Frau, M J Gonçalves, C Cavaleira, L Salgueiro (2012). Isolation of the volatile fraction from *Apium graveolens* L (apiaceae) par extraction au dioxyde de carbone supercritique et hydrodistillation : composition chimique et activité antifongique. Natural product research. 27(17) : 1521-1527.
41. A HAtta, A Alkofahi (1998). Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts. Journal of ethnopharmacology. 60(2) : 117-124.
42. S Hmiri, N Amari, M Rahouti (2011). Détermination in vitro de l'activité antifongique des vapeurs d'eugénol et d'huiles essentielles de *Mentha pulegium* L et de *Tanacetum annuum* L

vis-à-vis de trois champignons responsables de la pourriture des pommes en post-récolte. Acta Botanica Gallica. 158(4): 609-616.

43. A Barchan, M Bakcali, A Lagalaoui (2016). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. Phytothérapie. 14(2): 88-96.

44. J RHayes, M S Stavanja, B M Lawrence(2007). Biological and toxicological properties of mint oils and their major isolates: safty assessment. In : lawrence BM, editor. Mint: the genus Menthe. CRC press, Taylor & Francis Group, 462-477p.

45. J Buckle (2015). Clinical aromatherapy essential oils in healthcare. Churchill livingstone, an imprint of Elsevier Inc, 44-55 p.

46. JAY (1967). Action de la lumière sur la germination des akènes de Cèleri (*Apium graveolens*). Départ. Région. Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon. 1(36) : 234-240.

47. JC Chalchat,, MS Gorunovlc, ZA Maksimovlc, SD Petrovlc (2000). Essential oil of wild growing *Mentha pulegium* L. from Yugoslavia. J. Essent. Oil Res. 12: 598-600.

48. P Quézel, S Santa (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Paris, CNRS, 1170 p.

49. KH Talahagcha, S kassa (2008). Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Mentha pulegium*. (menthe pouliot).D.E.S en biologie, pages

50. JL Guignard, F Dupont (2004). Botanique : Systématique moléculaire, 13ème éd. Ed. Masson, Paris, 237 p.

51. (Google Earth, 2020) :

<https://www.google.com/maps/place/A%C3%AFn+Deheb/@34.8471212,1.5133656,13z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x1287153490b8d90b:0xa4839d5cea8aad40!8m2!3d34.8471273!4d1.5450766>

52. (Google Earth, 2020) :

[.https://www.google.com/maps/search/TIARET+MALLAKO+SIDI+WADDAH/@35.345073,1.1970515,11z/data=!3m1!4b1](https://www.google.com/maps/search/TIARET+MALLAKO+SIDI+WADDAH/@35.345073,1.1970515,11z/data=!3m1!4b1)

53. MH Jourdan (1989). Ache des marais (*Apium graveolens* L., Umbellifères), Thèse d'exercice de pharmacie, Université Grenoble Alpes, France
54. https://www.researchgate.net/figure/Apiaceae-Apium-graveolens-L-from-https-googl-images-7RWqQ4_fig4_326208453
- (De : <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/1351.html>)
55. T Bernard, F Perinau, M Delmas, A gaset, (1988). extraction des huiles essentielles, (chimie et technologie) : information chimie .298 .179.184
56. Eberhad teuscher, Robert anton, annelise lobstien, 2005, plantes aromatiques, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, paris, pp 176.177.178.179.180.310.311
57. H. boubakeur, k.Rebbas, R. Belhattab (2017), activités antioxydante et antibactérienne des extraits d'*helichrysum stoechas* (L) Moench., Lavoisier SAS. pp 03
58. stéphane fontany; marie-eugénie mougenot, raphael E. DUVAL, 2014, évaluation des activités antimicrobiennes des huiles essentielles et/ ou de leurs composants majoritaires ; n 52; pp 113.114.115.116
59. F hadji- minaglou, J kaloustain, 2012, la connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie entre science médicale raisonnée, paris, pp 30; 34
60. K Alloun, 2013, composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de l'aneth (*Anethum graveolens* L); de la sauge (*salvia officinalis* L), thèse de doctorat, école nationale supérieure agronomique EL, HARRACH –ALGER- pp 40.41.42
61. M Grievev (1995). Modern herbal. ed electric newt.
62. NF ISO 11242/1999(T75-103).
63. (ISO, 2001).
64. (ISO3960, 2017
65. (ISO280/1998),
66. ISO 280/1998

67.(ISO 592/1998).

68. J Laurent (2017).conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. PP 69-70.

Résumé

Les huiles essentielles sont connues par leurs propriétés thérapeutiques à l'égard des maladies. Ils peuvent se substituer avec succès aux antibiotiques qui montrent leurs inefficacités à l'encontre des microorganismes résistants. Ces vertus thérapeutiques nous a conduit à effectuer l'analyse physico-chimique et l'activité antimicrobienne ainsi que l'activité antioxydante des huiles essentielles d'*Apium graveolens L.* et de *Mentha pulegium L.* L'extraction des huiles est effectuée par hydrodistillation.

Les résultats du rendement de l'extraction de l'huile essentielle des graines d'*Apium graveolens L.* faite par hydrodistillation dans la région de Mostaganem enregistre un rendement de 1.95. Dans une étude réalisée dans la région de Bordj bou Arreridj en, l'extraction des huiles essentielles de *Mentha pulegium L.* a donné un rendement de 0.64 ± 0.01 .

Dans notre étude, les indices physico-chimiques ciblés pour les deux plantes sont l'indice d'acide, d'ester, de saponification et de peroxyde. D'après les études antérieures, l'analyse de l'huile d'*Apium graveolens L.* a montré les résultats suivants : l'indice d'acide 6.47/ l'indice de saponification 72.54/ l'indice de peroxyde 10. Et pour *Mentha pulegium L.* les résultats sont les suivants : l'indice d'acide 0.86, l'indice d'ester 87.53/ l'indice de saponification 96.17/ l'indice de peroxyde 26.4.

Mots clés : huiles essentielles, activité antimicrobienne, activité antioxydante, *Apium graveolens L.*, *Mentha pulegium L.*, indices physico-chimiques.

Abstract

Essential oils are known for their curative properties against diseases, and we can replace antibiotics with essential oils. Thanks to these medical properties, we performed physical and chemical analyzes antimicrobial activity and also antioxidant activity of two types of essential oils *Mentha pulegium L.* and *Apium graveolens L.* We extracted these two essential oils by water distillation

The results of the essential oil extraction of *Apium graveolens L.* seeds are shown by water distillation, in the region of Mostaganem, a return of 1.95. In another study conducted in Bordj Bou Arreridj, the extraction of essential oils from *Mentha pulegium L.* It gives a yield of 0.01 ± 0.01

In our study the target physical and chemical indicators of two plants are acid index, ester index, saponification and peroxides index, the analysis of *Apium graveolens L.* oil showed the following results: acid 6.47/ saponification 72.54/ peroxide 10. As for *Mentha pulegium L.* the results were: acid 0.86 / ester 87.53, saponification 96.17, peroxide 26.4.

Key words: Essential oils, antimicrobial activity, antioxidant, *Apium graveolens L.*, *Mentha pulegium L.*, indices physico-chemical

ملخص

تعرف الزيوت الأساسية بخصائصها العلاجية ضد الأمراض كما أننا نستطيع استبدال المضادات الحيوية بزيوت أساسية. وبفضل هاته الخصائص العلاجية قمنا بإجراء التحاليل الفيزيائية والكيميائية والنشاط المضاد للمكروبات وكذلك النشاط

المضاد للاكسدة لنوعين من الزيوت *Apium graveolens L.*, *Mentha pulegium L.*

كما قمنا باستخراج هذان الزيتان الأساسيان بالتقطير المائي

بواسطة التقطير المائي في منطقة مستغانم عائدا قدره 1.95 *Apium graveolens L.* تظهر نتائج استخراج الزيت العطري من بذور

Mentha pulegium L. وفي دراسة أخرى أجريت في منطقة برج بوعريبيج بالجزائر أعطى استخلاص الزيوت العطرية من

محصولا قدره 0.64 ± 0.01 في دراستنا للمؤشرات الفيزيائية والكيميائية المستهدفة لنبتين هي الحمض. الاستر. التصبن و

البيروكسيد

الحمض 6.47, الاستر والتصبن 72.54: *Apium graveolens L.* ووفقا للدراسات السابقة اظهر تحليل زيت النتائج التالية

البيروكسيد 10,

النتائج كانت كالتالي: الحمض 0.86, الاستر 87.53, التصبن 96.17, البيروكسيد 26.64 *Mentha pulegium L.* اما بالنسبة ل

الكلمات المفتاحية : الزيوت الأساسية, المضادات الحيوية, مضادات الاكسدة, المؤشرات الفيزيائية والكيميائية