



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ IBN-KHALDOUN - TIARET-  
ANNEXE SOUGUEUR

**MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES**

Pour l'obtention du diplôme de Master

Filière : CHIMIE

Spécialité : Chimie Organique

Par :

Mr Ahmed BAKHTIL

**THÈME**

*Etude des propriétés physiques et évaluation du  
pouvoir antioxydant de l'huile essentielle de la menthe  
algérienne.*

*Soutenue publiquement le :*

*12 / 07 /2021 devant le Jury composé de:*

Mr Ghazi Redhwane	M. C .B	Université de Tiaret	Président
Mr ATMANI Abdelali	M. C .B	Université de Tiaret	Examinateur
Mlle LAOUD Aicha	M. C. B	Université de Tiaret	Encadreur

PROMOTION 2020 /2021

# *Dédicace*

*Grace Allah*

*Je dédie ce modeste travail :*

*Aux deux personnes les plus proches de mon âme et coeur, Mes Chères parents.  
Qui ont sacrifié toute leur Vie Pour me soutenir et m'encourager à réaliser mes  
rêves et Ambitions, qu'ils trouvent ici tout mon amour et ma gratitude.*

*A mes sœurs.*

*A mes frères.*

*A toute la famille « BAKHTIL ».*

*A tous ceux que j'ai eu le plaisir de connaître.*

*Une spéciale dédicace à tous mes amis (es).*

*A toute la promotion de master 2 chimie organique.*

*Enfin à tous ceux qui nous sont très chers*

***BAKHTIL Ahmed***



# *Remerciements*

« Tout d'abord merci à mon Dieu »

Je tiens à remercier en tout premier lieu, mon encadreur Mlle LAOUD AICHA à l'université de Tiaret pour son encadrement, ses efforts, son soutien.

Je tiens aussi à remercier ceux qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail : Mr RAKRAK KADOUR, Mr ATMANI ABDELALLI et Mr GHAZI REDHWANE pour avoir accepté d'examiner ce travail et participer au Jury.

Notre respectueuse reconnaissance va à **Mr A. Larbi**, technicien du laboratoire de chimie pour leur aide, sa patience et sa bonne maniabilité avec nous.

Enfin, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribués de près Ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

## Table de matière

Abstract.....	I
Résumé.....	II
Liste des schémas.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Liste des abréviations.....	VI
Introduction générale.....	01

### **Partie I :Partie Bibliographique**

#### ***Chapitre I : Généralités sur les Huiles essentielles***

<b>1 Huile essentielles.....</b>	<b>4</b>
1-1 Origine des huiles essentielles.....	5
1-2 Localisation dans les végétaux.....	5
1-3 Composition chimique.....	5
1-4 Propriétés des huiles essentielles.....	6
1-4-1 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles.....	6
1-4-2 Propriétés physiques.....	6
1-4-3 Les Propriétés chimiques.....	6
<b>2 Méthodes d'extraction et caractérisation d'huile essentielle de la menthe.....</b>	<b>6</b>
2-1-Hydro distillation.....	6
2-2 Entraînement à la vapeur d'eau .....	7
2-3 Hydro-diffusion.....	7
2-4 Autres procédés d'extraction .....	8
2-4-1 Enfleurage et macération.....	8
2-4-2 Extraction à froid .....	8
2-4-3 Extraction aux solvants volatils.....	8
2-4-4 Extraction assistée par micro-ondes.....	9
2-4-5 Extraction par gaz supercritique.....	9
<b>3 Huile essentielle de Menthe poivrée.....</b>	<b>10</b>
Référence bibliographique.....	12

#### ***Chapitre II : Description de la menthe***

1 La menthe.....	14
1-1 Définition.....	14
1-2 Caractéristiques.....	14
1-3 Les propriétés.....	15



## Table de matière

1-3-1 Ses propriétés Thérapeutiques.....	15
2 Usages médicinales du plant.....	15
3 La menthe poivrée (mentha x piperata) .....	16
3-1 Définition.....	16
3-2 Principaux constituants actifs de son huile essentielle.....	17
Référence bibliographique.....	18

### *Chapitre III: L'activité anti-oxydante*

L'activité anti-oxydante.....	19
1 Différent type de radicaux libres.....	19
2 Origine et production des espèces réactives oxygénées.....	19
3 Détoxification passive.....	20
4 Méthodes d'évaluation in vitro des propriétés antioxydants.....	20
4-1 La méthode de DPPH.....	20
4-2 La méthode de FRAP.....	21
Référence bibliographique.....	23

### **Partie II :Partie Expérimentale**

#### **Chapitre IV : Matériel et Méthodes**

<b>1 Matériel.....</b>	<b>25</b>
1-1 Matériel végétal.....	25
1-2 Matériel utilisé.....	25
1-3 Produits et réactifs chimiques.....	25
<b>2 Méthode.....</b>	<b>25</b>
2-1 Préparation des extraits.....	25
2-1-1 Extrait aqueux.....	25
2-1-2 Extrait méthanoïque.....	25
2-2 Screening phytochimique.....	25
2-2-1 Détection des flavonoïdes.....	26
2-2-2 Détection des tanins.....	26
2-2-3 Détection des saponines.....	26
2-2-4 Détection des substances polyphénoliques.....	26
2-2-5 Détection des anthocyanes.....	26
2-2-6 Détection des terpénoïdes.....	26
2-2-7 Détection des alcaloïdes.....	26
2-2-8 Détection des anthraquinones.....	27

## Table de matière

2-2-9 Détection des quinones.....	27
2-3 Huiles essentielles.....	27
2-3-1 Procédé d'extraction des huiles essentielles.....	27
2-3-2 Rendement.....	28
2-3-3 Evaluation chimique de l'activité antioxydante.....	28
2-3-3-1 Test DPPH : piégeage du radical 2,2-diphényl-1picrylhydrazyl (DPPH <sup>•</sup> ).....	28
2-3-3-2 Principe du test.....	28
2-3-3-3 Mode opératoire.....	29
Référence bibliographique.....	30

### Chapitre V : Résultats et Discussion

1 Screening phytochimique .....	32
2-Rendement en HE.....	37
3-Etude de l'activité anti-oxydante de nos huiles essentielles.....	37
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>42</b>

## Résumé

Notre travail est réalisé dans le cadre d'évaluer l'activité antioxydant de l'huile essentiel de la Menthe récolté dans la région de Tiaret et qui est utilisée traditionnellement comme assaisonnements dans nos plats, ou consommée en infusion. Après une étape d'hydrodistillation réalisée, l'huile essentielle obtenue a été soumis à l'étude de l'activité antioxydant.

Le pouvoir antioxydant de cette huile, a été mesuré à l'aide de la méthode de DPPH, et les résultats obtenus montrent que l'huile essentiel de notre plante possède une activité antioxydant plus élevé que celle de l'huile essentiel commerciale avec une  $IC_{50} = 9,634.10^{-3}$  mg/ml et  $21,875.10^{-3}$  mg/ml respectivement. Ces valeurs sont comparés avec celle de l'acide ascorbique qui a une  $IC_{50} = 8,665.10^{-6}$  mg/ml.

**Mots-clés:** Huile essentielle, plante aromatique, menthe poivrée, activité antioxydante.

## Abstract

Our work is carried out in the context of evaluating the antioxidant activity of the essential oil of Mint harvested in the Tiaret region and which is traditionally used as seasonings in our dishes, or consumed as an infusion. After a hydrodistillation step carried out, the essential oil obtained was subjected to the study of antioxidant activity.

The antioxidant power of this oil was measured using the DPPH method, and the results obtained show that the essential oil of our plant has a higher antioxidant activity than that of commercial essential oil with an  $IC_{50} = 9,634.10^{-3}$  mg/ml and  $21,875.10^{-3}$  mg/ml respectively. These values are compared with that of ascorbic acid which has an  $IC_{50} = 8,665.10^{-6}$  mg/ml.

**Keywords:** Essential oil, aromatic plant, peppermint, antioxidant activity.

## ملخص:

يتم تنفيذ عملنا في سياق تقييم نشاط مضاد للاكسدة لزيت العطري لنعناع الذي يتم حصاده في منطقة تيارت والذي يستخدم تقليديا كتوابل في اطباقنا، او يتم استهلاكه كتسريب بعد تنفيذ خطوة التوسيع المائي.

تم اخضاع الزيت العطري الذي تم الحصول عليه لدراسة نشاط مضادات الاكسدة. تم قياس قوة مضادات الاكسدة لهذا الزيت باستخدام طريقة DPPH واطهرت النتائج التب تم الحصول عليها ان الزيت العطري لنباتنا يحتوي على نشاط مضاد لأكسدة

اعلى من الزيت العطري التجاري مع  $IC_{50} = 9,634.10^{-3} \text{ mg/ml}$  et  $21,875.10^{-3} \text{ mg/ml}$

على التوالي

تتم مقارنة هذه القيم بتلك الخاصة بحمض الاسكوربيك الذي يحتوي على  $IC_{50} = 8,665.10^{-6}$  ملغ/مل

**الكلمات المفتاحية:** الزيت العطري، نبات عطري، نعناع، نشاط مضاد للاكسدة .

**Chapitre I : Généralités sur les Huiles essentielles**

Tableau 01 : Caractéristiques de l'huile essentielle	11
--	----

**Chapitre V : Résultats et discussion**

Tableau 1: Résultats du screening phytochimique des feuilles et des tiges de (Menthe)	32
---	----

Tableau 2 : valeurs des concentrations inhibitrices du standard et d'huile essentielle de la menthe poivrée et de l'huile commerciale.	37
--	----

**Chapitre I : Généralités sur les Huiles essentielles**

Figure 01: Structure de Menthol	04
Figure 02: Appareillage utilisé pendant l'hydro-distillation d'huiles essentielle	07
Figure 03: Principe de la distillation par entrainement à vapeur d'eau	07
Figure 04: Extraction par enfleurage et macération	08
Figure 05: Appareil (Soxhlet) utilisé pour l'extraction aux solvants volatils	09
Figure 06: Procédé d'extraction par micro-ondes	09
Figure 07: Principe de la technique d'extraction par le CO <sub>2</sub> supercritique	10

**Chapitre II: Description de la menthe**

Figure 01: plante de la menthe	14
Figure 02: Mentha x piperata (menthe poivrée)	17

**Chapitre III: L'activité anti-oxydante**

Figure 01: Principe du test DPPH	21
Figure 02: Mécanisme réactionnel du test FRAP	22

**Chapitre IV: Matériel et Méthodes**

Figure 01: Montage expérimental de l'hydrodistillation	27
--	----

**Chapitre V: Résultats et discussion**

Figure 01: Résultats de test des flavonoïdes des feuilles et tiges de la menthe.	33
Figure 02: Résultats de test des Tanins des feuilles et tiges de la menthe.	33
Figure 03: Résultats de test des Saponines des feuilles et tiges de la menthe.	34
Figure 04: Résultats de test des Poly phénoliques des feuilles et tiges de la menthe.	34
Figure 05: Résultats de test des Anthocyaniques des feuilles et tiges de la menthe.	35
Figure 06: Résultats de test des Terpénoïdes des feuilles et tiges de la menthe.	35
Figure 07: Résultats de test des alcaloïdes des feuilles et tiges de la menthe.	36
Figure 08: Résultats de test des Anthraquinones des feuilles et tiges de la menthe.	36
Figure 09: Résultats de test des Quinones des feuilles et tiges de la menthe.	37
Figure 10 : Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'AO de l'Acide ascorbique	38
Figure 11 : Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'HE huile essentielle	39
Figure 12: Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'HEc huile essentielle commerciale	40

*Chapitre IV : Matériel et Méthodes*

Schéma 1: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH<sup>•</sup> entre l'espèce radicalaire DPPH<sup>•</sup> et un antioxydant (AH) 29



## Liste des abréviations

AA : Acide Ascorbique

ABS : Absorbance

AFNOR : Association Française de Normalisation

AO : Activité Antioxydant

ATP : Adénosine TriPhosphate

IC<sub>50</sub> : Concentration Inhibitrice

DPPH : 2,2-DiPhényl-1-PicrylHydrazyle

EAA : Equivalent d'Acide Ascorbique

ERO : Espèce Réactive Oxygénée

FRAP : Ferric Reducing Antioxydant Power (la réduction du fer)

HE : Huile Essentielle

HEC : Huile Essentielle Commerciale

Rdt : Rendement

# *Introduction générale*

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer, et aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé [1].

Ces plantes représentent une source immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique, et ils possèdent de nombreuses activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante, qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [2].

Par ailleurs, les plantes médicinales et aromatiques en particulier, jouent un rôle économique très important dans des secteurs très divers [1], à cause de la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles, principalement en aromathérapie [3] grâce à leurs propriétés organoleptiques et antioxydantes.

L'aromathérapie, étant une branche particulière de la phytothérapie, est considérée à travers le monde comme une médecine complémentaire ou alternative de la médecine traditionnelle [4].

De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, des biologistes et des médecins [5]. Cette popularité des huiles essentielles et des plantes aromatiques, est en général liée à leurs propriétés médicinales anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides, tonifiantes, stimulantes, et calmantes [6]. Elles sont également utilisées dans le traitement de certaines maladies infectieuses, pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs.

Dans la plante, les huiles essentielles peuvent être stockées dans divers organes : fleurs, feuilles, écorces, bois, racines, rhizomes, fruits ou graines [7].

L'Algérie est connue pour sa diversité taxonomique vu sa position biogéographique privilégiée [8]. Cependant, il y a eu peu d'efforts consacrés à l'étude des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pour cette raison que nous nous sommes intéressés à étudier la menthe poivrée.

Dans le présent travail, nous allons effectuer l'extraction de l'huile essentielle de la menthe poivrée, qui appartient à la famille des Lamiacées. Par la suite nous essayerons de mettre en veille les activités thérapeutiques de cette plante et ses effets bénéfiques sur la santé humaine, grâce à une étude de l'activité antioxydant de l'huile essentielle obtenue.

Notre étude comporte deux grandes parties, dont : La première est consacrée à la partie bibliographique, elle est divisée en trois chapitres :

Le premier chapitre est employé à un aperçu bibliographique sur sur les huiles essentielles et les différentes méthodes d'extraction.

Le deuxième chapitre est consacré à une généralité sur la plante étudié

Le troisième chapitre est consacré à un aperçu bibliographique sur l'activité anti-oxydante.

Et la deuxième partie expérimentale est subdivisée en deux chapitres :

Le premier chapitre est employé aux matériels et méthodes utilisées pour L'extraction, les tests phytochimique, suivis l'évaluation d'activités anti-oxydante de nos huiles essentielles.

Le deuxième chapitre (résultats et discussions) aborde les différents résultats obtenu et leurs discussions. Enfin, une conclusion générale.

**Référence bibliographique :**

- [1] Bruneton, J. « Pharmacognosie », Plantes médicinales, Ed. Lavoisier, Techniques et Documentation, Paris 1999, 405; b) Da Cruz-Cabral, L.; Fernandez-Pinto, V.; Patriarca, A. Int J Food Microbiol. 2013, 166, 1-14.
- [2] Alessandra Moro Buronzo, grande guide des huiles essentielles santé beauté bien-être, Hachette pratique france, 2008, 205.
- [3] Alessandra Moro Buronzo, grande guide des huiles essentielles santé beauté Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires
- [4] Lorrain E. (2013). 100 questions sur la phytothérapie (La boétie, Italie ed.).
- [5] Farnsworth, N. R.; Akerele, O.; Bingel, A.S.; Soejarto, D.D.; Guo, Z. Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé 1986, 64(2), 159-175; b) Roux, D.; Catier, O. « Botanique, pharmacognosie, phytothérapie », 3ème Ed. Porphyre 2007, 13.
- [6] FRANCHOMME, P., JOLLOIS, R., PENOEL, D. L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles Editions Jollois, 2001.
- [7] Brunechon J., 1987, Pharmacognosie, Ecole Technique de Documentation, Ed. Ravoilie
- [8] R. C.Pereira, P. Da Gama B. A., V. L.Teixeira, Y. Y.Yoneshigue-valentin, Braz. J. Bio, 2003, page : 667.

*Partie I :*

*Bibliographique*

*Chapitre I :*

*Généralités sur les Huiles*

*essentiels*

## 1-Huile essentielle

On appelle huiles essentielles (ou parfois essence végétale) le liquide concentré et hydrophobe des composés aromatiques volatiles d'une plante. Elle est obtenue par distillation ou extraction chimique. Par solvant (eau, alcool). Contrairement à ce que suppose la dénomination, ces extraits ne sont pas forcément huileux [1]. L'huile essentielle appartient à la gamme des métabolites secondaires, issue du métabolisme végétale, elle ne se rencontre cependant que chez certaines plantes, qui prennent ainsi le nom de plantes aromatiques [2,3].

Huiles essentielles, substances volatiles et odorantes sécrétées par des parties spécifiques de certains végétaux. Ils ont été initialement appelées « esprit » pour un souci de normalisation, cette dénomination « essence » a été abandonnée au profit de celle de l'huile essentielle, seul terme en usage actuellement. Le mot essentielle renferme deux significations: origine essence ou partie la plus importante [4].

L'huile essentielle est un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement par la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition [5].

La norme AFNOR NF T 75-006 définit l'huile essentielle comme : « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation. L'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques» [6]. Une huile essentielle est en général un mélange de substances naturelles volatiles obtenues par codistillation avec la vapeur d'eau à partir de la biomasse végétale.

Les huiles essentielles se caractérisent par leur odeur, leur goût, leurs propriétés physicochimiques et biologiques [7]. L'huile essentielle est de plus en plus souvent utilisée dans les cosmétiques. Elle possède de nombreuses propriétés qui permettraient de soigner toute sorte de troubles ou de désagréments grâce à leurs propriétés antibactériennes et antiseptiques [8].

*Exemple :*

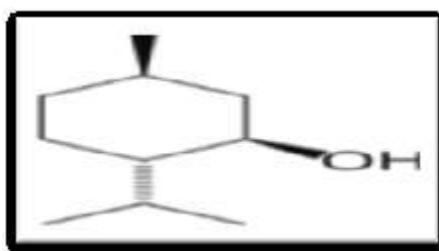


Figure 01 : Menthol



## 1-2 Origine des huiles essentielles

Les plantes vertes puisent l'eau et utilisent l'énergie solaire et le gaz carbonique présent dans l'air pour synthétiser les glucides, ce processus est appelé photosynthèse, il se déroule au niveau des feuilles, plus précisément au niveau des chloroplastes qui renferment la chlorophylle, les produits issus de la photosynthèse sont (glucides, NADPH, ATP) constituent une source d'énergies, ils contribuent à la génération de nouvelles cellules, ils interviennent indirectement dans la biosynthèse de divers composés secondaires tels que les lipides, les hétérosides et les essences. Ainsi les huiles essentielles font parties des résidus du métabolisme végétal [9].

## 1-3 Localisation dans les végétaux

Les HE sont stockés sous forme des microgouttelettes dans les glandes des plantes [10]. On les trouve dans les fleurs, les fruits, les feuilles, les racines, les graines et les écorces de nombreux végétaux [11]. Ces huiles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs comme dans la menthe, canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif [12].

Où les trouve-t-on dans les végétaux et qu'elle est leur rôle? Dans toutes les parties des plantes aromatiques, tous leurs organes végétaux, peuvent contenir de l'huile essentielle:

- Les fleurs, exemple : orange, rose, lavande
- Les feuilles, exemple : eucalyptus, Menthe, thyme, laurier, sauge, sapin
- Les organes souterrains, exemple : racines (vétiver), rhizomes (gingembre, acore)
- Les fruits, exemple : fenouil, anis, épicarpes des citrus
- Les graines, exemple : noix de muscade
- Le bois et les écorces, exemple : cannelle, santal, bois de rose
- Les huiles essentielles dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huiles essentielle, cellules à poils sécréteurs (comme dans la menthe), canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif.

Protection du bois contre les insectes et les champignons, certains insectes sont attirés par l'odeur des plantes aromatique [13].

## 1-4 Composition chimique

Les huiles essentielles sont constituées de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle. Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l'échantillon, ainsi que la méthode d'extraction

[14]. Les HE regroupent des "composés majeurs": les alcools, les esters, les aldéhydes, les cétones...etc.

## **1-5 Propriétés des huiles essentielles**

### **1-5-1 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles :**

Les huiles essentielles ont des propriétés organoleptiques communes comme le fait d'être liquides à température ambiante, d'être volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau. Elles sont aussi très odorantes et incolore ou jaune pâle sauf pour les huiles essentielles de cannelle, girofle, camomille matricaire, vétiver et bouleau où la couleur est relativement foncée [15].

### **1-5-2 Propriétés physiques :**

Les huiles essentielles ont aussi des propriétés physiques communes. Elles ne sont pas solubles dans l'eau mais en revanche elles le sont dans les solvants organiques et huiles végétales. Leurs densités sont inférieures à « 1 » sauf les huiles essentielles de cannelle, girofle, sassafras et ail. Elles sont sensibles à l'oxydation, conservation limitée, à la lumière et à la chaleur. Les huiles essentielles ont des indices de réfractions élevés et des pouvoirs rotatoires [16].

### **1-5-3 Propriétés chimiques :**

Les caractéristiques chimiques des huiles essentielles sont magiques. Il en résulte que les huiles essentielles constituent des mélanges complexes de composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très diverses, aboutissements de ces biosynthèses, en particulier celle des isoprénoïdes (Monoterpènes, sesquiterpènes, diterpènes, triterpènes, caroténoïdes) [17].

## **2 Méthodes d'extraction et caractérisation d'huile essentielle:**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles) et de la fragilité de certains constituants des huiles à la température élevée. Selon Piochon (2008), ils existent trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion [18].

### **2-1 Hydro-distillation:**

Il s'agit de la méthode la plus simple, et de ce fait la plus ancienne utilisée où la matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau puis placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'huile essentielle se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'huile essentielle étant plus légère que l'eau, surnage au-dessus de l'hydrolysate (Figure 02) [19].

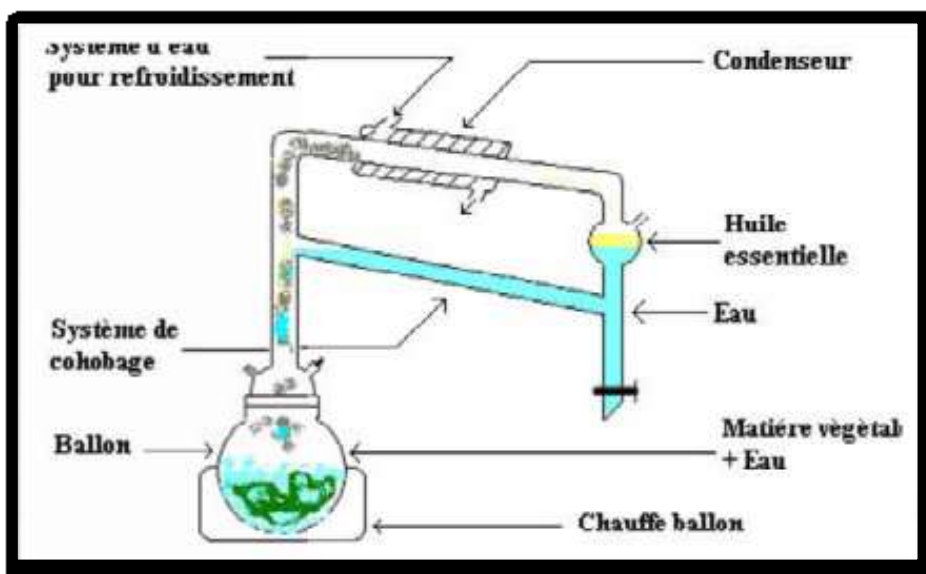


Figure 02 : Appareillage utilisé pendant l'hydro-distillation d'huiles essentielle

## 2-2 La distillation par entraînement à la vapeur d'eau :

Dans ce procédé, la masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. La vapeur d'eau endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant (Figure 03). Cette méthode apporte l'amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques [20].

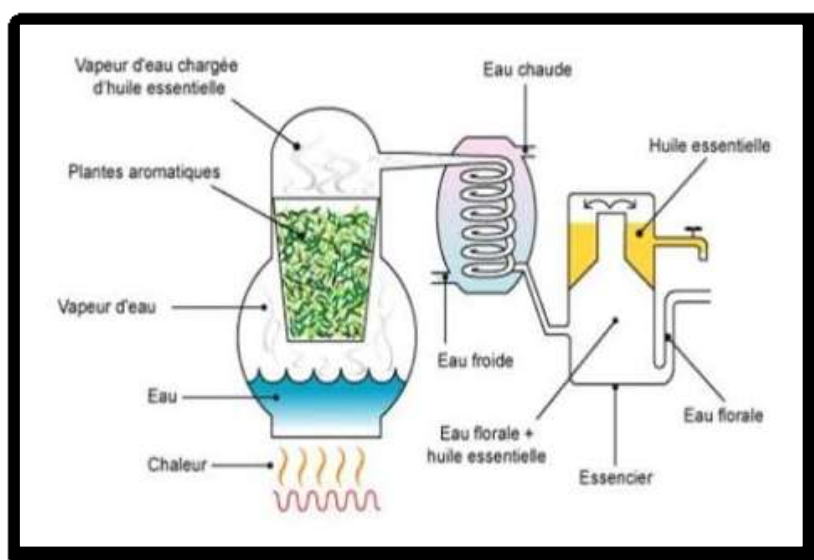


Figure 03: Principe de la distillation par entraînement à vapeur d'eau [21]

## 2-3 Hydro-diffusion :

Cette technique est relativement récente. Elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite, la vapeur d'eau à travers la matière végétale. L'avantage de cette méthode est d'être plus rapide, donc moins de dommage pour les composés volatils.

## 2-4 Autres procédés d'extraction :

### 2-4-1 Enfleurage et macération :

Cette technique, qui est la plus ancienne, est très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles, chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgées de parfum, les corps gras sont filtrés à travers de tissus de lin ou de coton (Figure 04). Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool puis filtrés et évaporés.

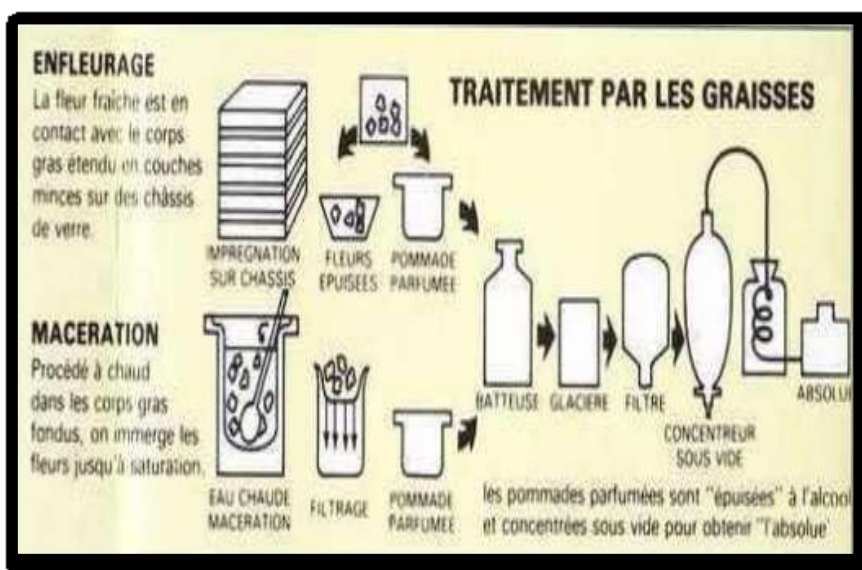


Figure 04: Extraction par enfleurage et macération

### 2-4-2 Extraction à froid :

Cette technique constitue le plus simple procédé, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce de fruit comporte des poches sécrétrices d'essences. Le procédé consiste à broyer à l'aide de presse, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique [22].

### 2-4-3 Extraction aux solvants volatils :

Ce procédé est utilisé pour les fleurs ne supportant pas la chaleur, et dont le rendement en huile essentielle est faible. Les solvants très volatils par exemple l'éther et l'hexane qui s'évaporent rapidement sont employés. Le solvant lave la matière première qui subira après une décantation, et une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de « concrète » par filtrage, puis glaçage de  $-12^{\circ}\text{C}$  à  $-15^{\circ}\text{C}$ . La précieuse substance ainsi obtenue est nouvelle filtrée et concentrée à faible pression



Figure 05 : Appareil (Soxhlet) utilisé pour l'extraction aux solvants volatils

#### 2-4-4 Extraction assistée par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ces procédés, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement et décantation (Figure 06) [20].

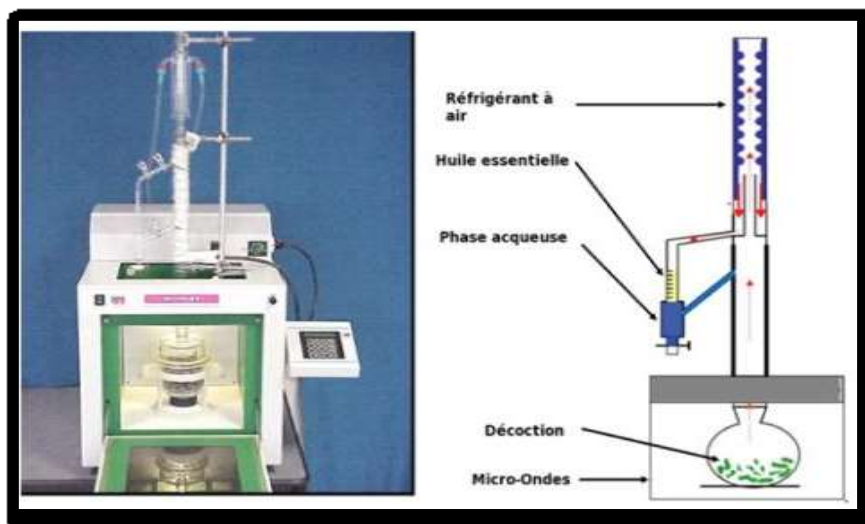


Figure 06 : Procédé d'extraction par micro-ondes [23]

#### 2-4-5 Extraction par gaz supercritique :

Comme son nom l'indique, le fluide dans cette extraction (Figure 07) est porté au-dessus du point critique, qui est caractérisé par la température et la pression qui correspondent à un changement de l'état physique de la substance, autrement dit, au-delà du point critique ( $P = 73,8$  bars et  $T = 31,1^{\circ}\text{C}$ ), le fluide peut avoir la densité d'un liquide et la

viscosité d'un gaz, ce qui lui confère une bonne di fusibilité dans les solides et un bon pouvoir solvant. Si plusieurs gaz peuvent en théorie être utilisés, le dioxyde de carbone emporte l'intérêt car c'est un produit naturel, aisément disponible, inerte chimiquement, ininflammable, strictement atoxique, facile à éliminer totalement, sélective et peu couteux [24].

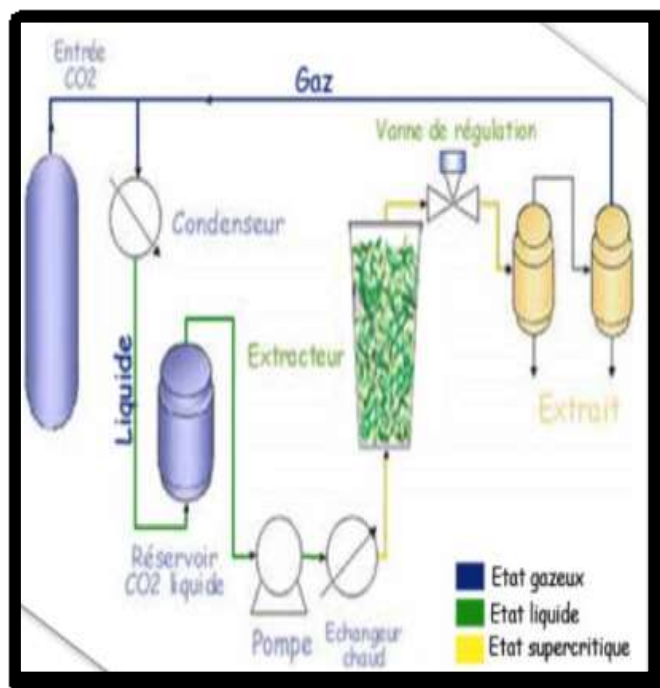


Figure 07: Principe de la technique d'extraction par le CO<sub>2</sub> supercritique [23]

### 3- Huile essentielle de Menthe poivrée :



Cultivée dans notre région provençale dans les départements du Vaucluse et des Alpes de Haute Provence sur des terres mise à l'irrigation, les parcelles de Menthe sont assez rares. L'huile essentielle de Menthe est utilisée principalement en arômes Alimentaires mais aussi en Parfumerie et cosmétique. C'est un liquide limpide transparent à jaune verdâtre clair. L'huile essentielle est 100% pure et naturelle obtenue par distillation à la vapeur des

sommités fleuries et de la partie verte de la plante. Son odeur est caractéristique de la plante [25].

**Tableau 01 : Caractéristiques de l'huile essentielle**

<b>Zone de production</b>	<b>Tiaret</b>
<b>Période de récolte</b>	Avril 2021
<b>Partie utilisé</b>	Les feuilles
<b>Apparence</b>	Liquide mobile, limpide
<b>Couleur</b>	Transparent à jaune verdâtre claire
<b>Odeur</b>	Caractéristique de la plante



**Référence bibliographique:**

- [1] Paris M, et al Abrégé de matière médicale, pharmacogénosie. 1981, Tome I, Masson, Paris, 339
- [2] Encyclopédie encarta 2004
- [3] Guinard, J.L. Biochimie végétale. Masson, 1996, Paris, 255
- [4] Huiles essentielles ; Microsoft® Encarta1® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation
- [5] PELLECUER J., JACOB M., SIMEON BOUCHBERG M., (1980). Essais d'utilisation d'huiles essentielles des plantes aromatiques méditerranéennes en odontologie conservatrice ; Plant Médicinales Phytothérapie ; P : 83-98
- [6] Georges Sens-Olive, « Les huiles essentielles - généralités et définitions », dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine, 1979, p. 143-144.
- [7] HEINRICH G., SCHULTZE W., PFAB I. ET BOETTGER M., (1983). The site of essential oil biosynthesis in *Poncirus trifoliata* and *Monarda fistulosa*. *Physiologie Vegetale* ; P : 257-268
- [8] MCGRAW-HILL., (2007). *Encyclopedia of Science and Technology*, 10th Edition.
- [9] H. J. Wagner, « Early Spectroscopy and the Balmer Lines of Hydrogen », *Journal of Chemical Education*, vol. 82, no 3, 2005, p. 380.
- [10] Narishetty, S.T.K.; Panchagnula, R. *Journal of controlled release*. 2004, 95, 367-379.
- [11] The Editors of *Encyclopædia Britannica*; ©2016 *Encyclopædia Britannica, Inc*
- [12] Additifs alimentaires; Microsoft® Encarta2® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation
- [13] EL KALAMOUNI C., (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits aromatiques oubliés de Midi- Pyrénées ; thèse de doctorat ; université de Toulouse.
- [14] Brunton, J. *Pharmacogenèse phytochimie plante médicinales*. 1999, 3<sup>ème</sup> édition, Tec & Doc et EM inter, 1120
- [15] Stashenko, E.E.; Jaramillo, B.E.; Martínez, J.R., Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenaceae, *Rev. Acad. Colomb. Cienc. Exactas Fis. Nat.*, 2003, 27, 105, 579-597.
- [16] Franchomme P. et Pénéol D. *L'aromathérapie exactement*. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jollois Éditeur, France, 1990.
- [17] Seenivasan Prabuseenivasan, Manickam Jayakumaret Savarimuthu Ignacimuthu, In vitro antibacterial activity of some plant essential oils, *Complementary and Alternative Medicine*, 2006, 6:39.



- [18] Piochon M. (2008), étude des huiles essentielles d'espece vegetales de la flore laurentienne : composition chimique, activité pharmacologique et hémi-synthèse. Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- [19] LUCCHESI M.E. (2005).« Extraction sans solvant assisté par micro-onde conception et application à l'extraction des huiles essentielles, thèse de doctorat en Sciences, discipline : Chimie. Université de la réunion. Faculté des Sciences et Technologie».
- [20] Bruneton J.(1993).Pharmacognosie. Photochimie. Plantes médicinales 2<sup>ème</sup> édition : Lavoisier, Paris, 916p.
- [21] Boutamani Meriem, (2013). Etude de la variation du rendement et de la composition chimique du Curcuma longa et Myristicafragrans en fonction du temps et de la technique utilisée ; Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene Alger - Master domaine chimie du médicament 2013.
- [22] Roux et Catier, (2007). Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3emeedition.
- [23] Hemwimon S., Pavasant P. &Shotiprux A. (2007). «Microware-assisted extraction of antioxidativeanthraquinones from roots of MorindaCitrofolia.Separation and purification Technology, 54, 44-50».
- [24] PourmortazaviS.M,&Hajimirsadeghi S.S. (2007). Supercritical fluid extraction inplant essential and volatile oil analysis, Journal of Chromatography A.
- [25] Catalogue des Huiles Essentielles de Provence 100% naturelles commercialisées par la SCA3P Quartier le Vignauou – 04150 Simiane La Rotonde – France – [www.sca3p.com](http://www.sca3p.com).

## ***Chapitre II:***

### ***Description de la menthe***

## 1- La menthe :

La menthe est l'une des plantes médicinales les plus célèbres que l'on connaît depuis plus longtemps. On a retrouvé en effet des feuilles de menthe séchées vieilles d'environ 3000 ans dans les pyramides égyptiennes. Tandis que les Grecs et les Hébreux s'en parfumaient, les Romains en glissaient dans leur vin et leurs sauces. Au Moyen Âge, on découvre vraiment ses vertus thérapeutiques soit en calmants, antiseptiques ou encore en anesthésiques, puisqu'elle est prescrite aux personnes souffrantes pour anesthésier la douleur. [1]

Le terme « menthe » est apparu dans la langue en 1275. Il vient du latin mentha, qui l'a emprunté au grec minthê.

### 1-1- Définition :

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

La menthe est une plante vivace, vivace du verbe vivre donc une herbacée qui vit longtemps en général supérieur à deux ans, qui produit plusieurs floraisons et qui résiste aux rigueurs de la mauvaise saison, que ce soit le gel de l'hiver ou la sécheresse des périodes de canicule. [2]



Figure 01 : Une variété de plante de menthe

### 1-2- Caractéristiques :

- ✓ **Description:** Plante herbacée vivace de 10-50cm de haut, à tige droite quadrangulaire, feuilles pétiolé, lancéolées, dentées, vertes. Fleurs mauves, roses ou blanches.
- ✓ **Odeur:** Très fine, très aromatique.
- ✓ **Saveur:** Chaude, piquante, acre, très aromatique, laissant dans la bouche une impression de fraîcheur agréable.

- ✓ **Composants chimique:** Menthol, Menthone, Mentène, Carvone, Pulégone, Limonene, Tanin...
- ✓ **Famille :** lamiacées.

- Lamiacées sont des plantes herbacées, rarement ligneuses, souvent velues, à tige généralement quadrangulaire ; feuilles opposées, disposées en paires se croisant d'un nœud à l'autre (décussées), sans stipules, à limbe denté ; fleurs (rarement isolées) en cyme, souvent réunies en faux verticilles étagés, axillaires ou terminaux ; corolle en forme de tube se terminant par 4-5 lobes ou subégaux, ou formant 1 lèvre inférieure, ou le plus souvent formant 2 lèvres. Les Lamiacées, répandues dans le Bassin méditerranéen, possèdent souvent des glandes à huiles essentielles les rendant très odorantes (nombreuses espèces aromatiques ou médicinales). [3]

### 1-3 Les propriétés :

- La menthe, riche en vitamine C, en fer, en manganèse. Elle est conseillée pour les femmes enceintes, allaitantes, et les personnes présentant des troubles digestifs, ou sujets aux maux de ventre.
- De par sa forte teneur en antioxydants, elle contribue à limiter les risques de maladies cardiovasculaires ainsi que celles liées au vieillissement.
- La menthe se révèle être un insecticide naturel efficace.
- Appliquée au niveau des ouvertures de votre habitation, elle devient une barrière contre les moustiques.

### 1-3-1 Ses propriétés Thérapeutiques

- Anesthésique, analgésique
- Antibactérienne
- Anti virale
- Anti-inflammatoire urinaire et intestinale
- Tonique et stimulante digestive
- Emménagogue.

### 2 Usages médicinales de la plante

En générale une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7.000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la phytothérapie. [4]

La menthe est avant tout une plante bienfaitrice ayant un pouvoir positif sur la santé. D'après certaines sources, la menthe fut utilisée au Moyen Âge par de nombreuses personnes telles que les chirurgiens pour ses propriétés calmantes. Mélangée à de l'opium, elle servait à apaiser les malades. Considérée comme une herbe aromatique, la menthe est, depuis toujours, un moyen efficace de lutter contre les troubles digestifs. En effet, idéale en infusion, elle permet de contrôler les problèmes gastriques et peut aider en cas d'indigestion. Stimulante et relaxante, elle peut aussi s'employer pour faciliter le sommeil et conduire à un état de relaxation. Certaines recherches ont même montré que la plante aurait des propriétés antibactériennes. Ce qui explique pourquoi les arabes en mettent dans l'eau qu'ils boivent pour que celle-ci se conserve plus longtemps. Il est aussi possible de s'en servir en inhalation après avoir réalisé une décoction avec celle-ci. Ses caractéristiques rafraîchissantes seraient idéales pour les voies respiratoires et auraient des effets décongestionnants. [5]

La menthe offre l'opportunité de lutter d'une façon naturelle contre divers maux sans effets secondaires. Très employée en phytothérapie, la menthe possède de nombreuses facultés anti-oxydantes et serait, selon des chercheurs, efficace contre le mauvais cholestérol. L'automédication n'est pas déconseillée car l'emploi des propriétés de la plante permet d'obtenir de bons résultats sans aucun effet négatif majeur sur la santé. Néanmoins, il faut quand même éviter les abus car une prise trop conséquente en infusion peut entraîner des insomnies surtout si elle est consommée le soir. On peut confectionner soi-même de l'huile de massage avec de la menthe, elle s'avère idéale pour lutter contre les douleurs. [6]

Comme d'autres plantes la menthe possède elle aussi de nombreuses variétés, mais nous ne pouvons pas tout aborder. Parmi ces variétés nous citons :

1. Menthe poivrée (*Mentha x piperita*)
2. Menthe des champs (*Mentha arvensis*)
3. Menthe pouliotou Menthe 'Flio' (*Mentha pulegium*)
4. Menthe verte (*Mentha spicata*)

Dans cette étude nous allons présenter le premier type : menthe poivrée.

### **3 La menthe poivrée (*mentha x piperata*) :**

#### **3-1 Définition :**

La menthe poivrée est la variété de menthe la plus répandue, et la plus utilisée en phytothérapie, pour ses propriétés, connues de la tradition et étudiées scientifiquement. On la trouve généralement sur des terrains humides et frais, de nature argileuse et calcaire.

Selon les différentes sources, cette plante vivace mesurerait de 10 à 60 cm de haut. Ses tiges sont velues et violacées et ses feuilles ovales et dentelées prennent des teintes vertes

foncées à bleu ou rouge. Ses fleurs sont roses, un peu violacées et regroupées en épis au sommet de la plante.

La menthe poivrée est une plante hybride issue du croisement de la menthe aquatique (*menthaaquatica*) et la menthe verte (*menthaspicata*), d'où le "X" présent dans sa dénomination latine. Elle est appelée également menthe sauvage ou encore menthe Anglaise.



**Figure 02 :Mentha x piperata (menthe poivrée)**

### 3-2 Principaux constituants actifs de son huile essentielle [8]

- Monoterpénols : menthol (30 à 50%)
- Cétones : menthone (entre 15 à 25%)
- Monoterpènes :  $\alpha$  et  $\beta$  pinène (env. 7%)

**Référence bibliographique :**

- [1] McKay DL, Blumberg JB, A review of the bioactivity and potential healthbenefits of peppermint tea (*Menthapiperita* L.), *Phytiatries*. 2006 Aug;20(8):619-33
- [2] <http://www.futura-sciences.com/>
- [3] (suite de la page 554, clef de détermination des Astéridées II).
- [4] Handbook of Chemistry and Physics, 71e éd., CRC Press, Ann Arbor, Michigan, 1990.
- [5] Histoire abrégée des drogues simples, Nicolas Jean-Baptiste G. Guibourt, 1826, page 41.
- [6] Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Vol.2 Dermatologie. D.Baudoux et A.Zhiri Ed. Inspir 2006.
- [7] Natural Standard (Ed). Herbs&Supplements - Peppermint oil (*Mentha x piperita* L.), Nature Medicine Quality Standard.[Consulté le 12 avril 2011]
- [8] Guide de la phytothérapie, Dr Grunwald et Janicke, Ed. Marabout, 2007

## ***Chapitre III :***

### ***L'activité anti-oxydant***



**Introduction :**

Les cellules et tissus humains peuvent être soumis à une grande variété d'agressions physiques (traumatisme, irradiation, hyper ou hypothermique), chimiques (acidose, toxines) et métaboliques (exposition à des xénobiotiques, privation d'un facteur hormonal ou facteur de croissance). La plupart de ces agressions débouchent sur une expression commune appelée stress oxydant, dues à l'exagération d'un phénomène physiologique, normalement très contrôlé, la production de radicaux dérivés de l'oxygène [1].

**L'activité antioxydante :**

Le premier test consiste à mesurer la capacité d'huile essentielle pure ainsi que celui acheté du commerce et celle de l'acide ascorbique à inhiber le radical stable DPPH. Il permet de mesurer le pouvoir réducteur des huiles. La mesure est effectuée après que le mélange de l'huile étudié et d'une solution éthanolique de DPPH ait été réalisé. Les résultats sont exprimés en termes de IC50, concentration permettant d'inhiber 50% du signal de référence.

**1- Différents types de radicaux libres :**

Un radical libre est une espèce caractérisée par une instabilité et /ou, un pouvoir oxydant fort. Il se différencie par la présence d'un électron non apparié sur la couche électronique la plus externe [2]. Parmi toutes les espèces réactives oxygénées (ERO), on distingue un ensemble restreint de ces composés qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appelons les radicaux primaires à savoir : l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ), le radical hydroxyle ( $\cdot OH$ ), le monoxyde d'azote ( $NO\cdot$ ), le radical peroxyde ( $ROO\cdot$ ) et le radical alkoxyde ( $RO\cdot$ ). Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires telles que l'oxygène singulet  $^1O_2$ , le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et le nitroperoxyde ( $ONOOH$ ), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [3].

**2- Origine et production des espèces réactives oxygénées :**

La chaîne respiratoire est une source permanente de production des ROS. Selon certains auteurs, environ 1 à 2% de l'oxygène utilisé par la mitochondrie sont incomplètement réduits et produisent des anions superoxyde, de l'eau oxygénée et éventuellement des radicaux hydroxyles [4]. L'inflammation est par ailleurs une source importante de radicaux oxygénés produits directement via les cellules phagocytaires. L'activation de ces cellules immunitaires par des stimuli exogènes ou endogènes s'accompagne d'une accélération de leur consommation d'oxygène avec activation d'une enzyme membranaire, la NADPH oxydase qui catalyse la réduction de cet oxygène en anion superoxyde ( $O_2^{\cdot -}$ ). Ce dernier donne le ( $H_2O_2$ ) par dismutation. Le  $O_2^{\cdot -}$  et  $H_2O_2$  participent à la libération d'hypochlorite sous l'influence d'une enzyme leucocytaire, la

myéloperoxydase [5]. A côté de ces sources majeures des ROS, d'autres sources existent. Les sources cytosoliques, constituées essentiellement de peroxydase qui constitue une source importante de la production cellulaire de  $H_2O_2$  [6,7], la xanthine oxydase qui produit de  $O_2^{\bullet-}$  et  $H_2O_2$  [8] et les enzymes de réticulum endoplasmique lisse (cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques) [9]. A cela, s'ajoute d'autres facteurs qui peuvent contribuer dans la formation des radicaux libres. On peut citer entre autres, les rayonnements UV capables de générer des anions superoxyde ou de l'oxygène singulet, les rayons X ou  $\gamma$  sont aussi capables de couper la molécule d'eau en deux radicaux par l'intermédiaire d'agents photo sensibilisants [10] les poussières d'amiante et de silice sont des sources des ROS [11,12]. Les fumées de combustion (cigarettes), la consommation de l'alcool et l'effort physique intense sont aussi des paramètres à ne pas écarter [13]. Des infections bactériennes ou virales provoquent, elles aussi selon Arousseau (2002) [14], des phénomènes radicalaires à caractère exponentiel après augmentation de la population des macrophages impliqués dans leur élimination.

### 3- Détoxification passive :

Elle permet la réduction des radicaux oxygénés qui ont pu passer les deux premières lignes de la défense. Elle inclut tous les antioxydants non enzymatiques capables de neutraliser seulement un radical libre par molécule tels que les vitamines C et E, les caroténoïdes, les composés phénoliques, les flavonoïdes, l'albumine, l'acide urique, les polyamines, l'acide lipoïque [15,16]. La vitamine E est considérée comme le principal antioxydant attaché à la membrane utilisé par la cellule pour inhiber la peroxydation lipidique [17,18]. Durant la réaction antioxydante, l' $\alpha$ -tocophérol est converti en radical  $\alpha$ -tocophérol beaucoup plus stable en perdant un hydrogène arraché par une espèce radicalaire (radical peroxy) : vitamine C, caroténoïdes, acide lipoïque, alumine et composés phénoliques.

### 4- Méthodes d'évaluation in vitro des propriétés antioxydants :

L'examen des données bibliographiques fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante. Parmi les tests les plus utilisés, nous présenterons ceux couramment cités et qui ont été utilisés au cours de notre étude: la méthode au DPPH (Diphényl Picrylhydrazyle) et la méthode de FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).

#### 4-1- La méthode de DPPH :

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque [19], le radical DPPH en solution est coloré en violet. En présence d'antioxydant

(donneurs de proton); le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable (Figure 01). Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition.

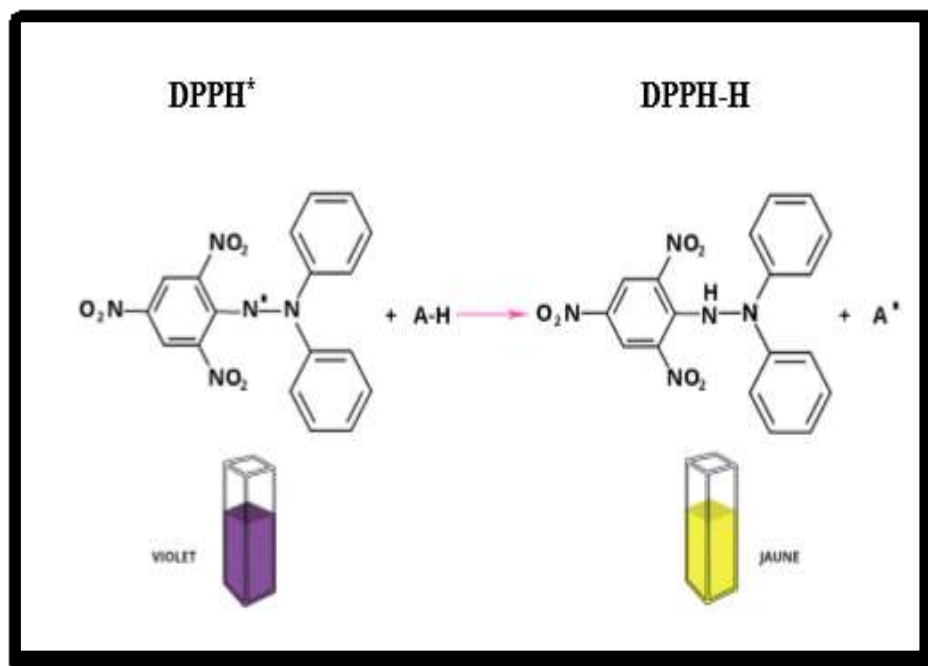


Figure 01: Principe du test DPPH

#### 4-2- La méthode de FRAP :

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de prooxydants. Parmi ces métaux, le cation ferrique  $\text{Fe}^{3+}$  est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale. Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante. L'activité antioxydante, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo-réduction ; la méthode FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique.

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par Lamien- Meda et al. en 2008[20]. Le dosage consiste à réduire à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique  $[(\text{Fe}(\text{III})\text{-TPTZ})]$  de couleur jaune en complexe ferreux  $[(\text{Fe}(\text{II})\text{-TPTZ})]$  de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (Figure 02). La variation de la coloration est mesurée 700 nm.

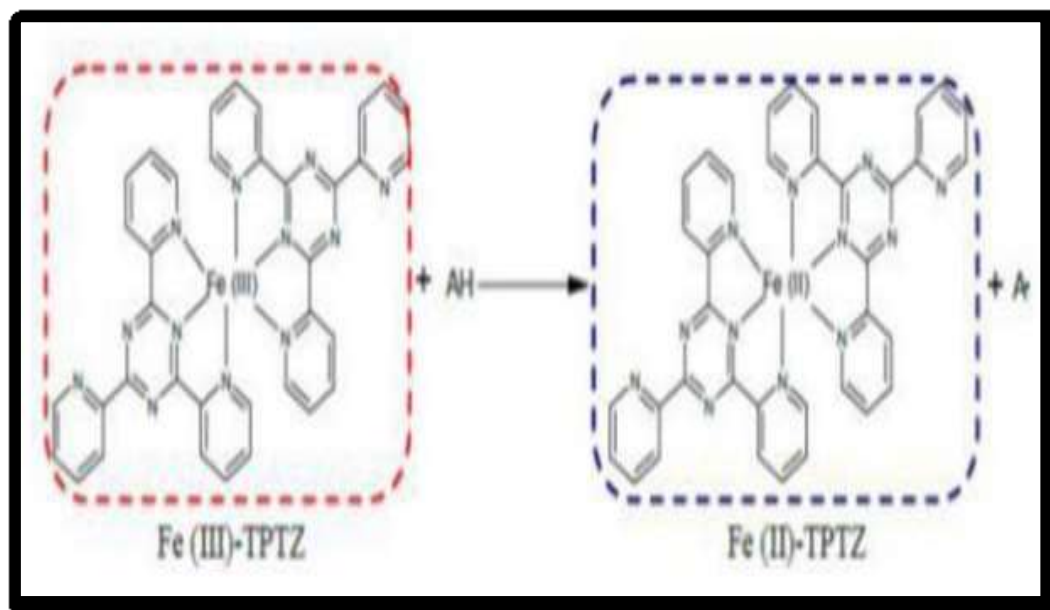


Figure 02: Mécanisme réactionnel du test FRAP

**Référence bibliographique :**

- [1] Walker J.E.M, Saraste M.J, Runswick and N.J.Gay., 1982.- Distantly related sequences in the alpha-and beta-subunits of ATP synthase, myosin, kinases and other ATP-requiring enzymes and a common nucleotide binding fold. *The Embo Journal*, 1(8): 945-51
- [2] André R. 1998.-La maladie de parkinson. Ed. Masson. 16-19.
- [3] Favier A., 2003.- Le stress oxydant. Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique*. 108-115.
- [4] Pincemail J., Bonjean K., Cayeux K. & Defraigne J. O. 2002.- Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante, *Nutrition clinique et métabolisme*. 16 : 233-239.
- [5] De Moffarts B., Kirschvink N., Pincemail J. & Lekeux P. 2005.- Impact physiologique et pathologique du stress oxydant chez le cheval. *Animale. Médecine. Vétérinaire*. 149: 1-9.
- [6] Sevanian A., Nordenbrand K., Kim E., Ernester L., Hochstein P. 1990.- Microsomal lipid peroxidation: The role of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450. *Free Radical Biology and Medicine*. 8: 145-152.
- [7] Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D & Mazur M. 2007.- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 39: 44-48.
- [8] Groussard C. 2006.- Stress oxydatif et exercice aérobic. *Oxidative stress and anaerobic exercise*. *Science & Sports*. 21 : 201-209.
- [9] Massion P., Preise R.J.C. & Balligand J.L. 2002.- Les espèces réactives de l'azote : bénéfiques ou délétères. *Reactive nitrogen species : deleterious or not*. *Nutrition clinique et métabolisme*. 16: 248-252.
- [10] Tamer F.M.D., 2003. – Free Radicals, Types, Sources and Damaging Reactions. *Internal Medicine Articles*
- [11] Wang B.S., Li B.S. & Zeng Q.X., 2008.- Antioxidant and free radical scavenging activities of pigments extracted from molasses alcohol wastewater. *Food chemistry*. 107 : 1198-1204.
- [12] Pincemail J., Defraigne J.O. & Limet R. 2001.- Vitamines, acides gras et prévention des maladies cardiovasculaires. *Medi Sphère*. 130 p
- [13] Lee J. Koo N. & Min D.B. 2006.- Reactive oxygen species, aging and antioxidant nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 1: 21-33.
- [14] Pincemail J. & Defraigne J.O. 2004.- Les antioxydants: un vaste réseau de défenses pour lutter contre les effets toxiques de l'oxygène, Symposium « antioxydant et alimentation » institut Danone. 23/10/2004.

- [15] Arousseau B. 2002.- Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage: conséquences sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits. INRA.
- [16] Svoboda K.P. & Hampson J. B., 1999.- Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>. Product of Animal. 15: 67-82.
- [17] Pryor W.A., 2000.- Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, Free Radical Biology and Medicine, 28: 141–164.
- [18] Cotellet N., Bernier J.L., Catteau J.P., Pommery J., Wallet J.C. & Gaydou E.M., 1996.- Antioxidant properties of hydroxyflavones. Free Radical Biology and Medicine. 20: 35 - 43.
- [19] Trouillas P., Calliste C.A., Allais D.P., Simon A., Marfak A., delage C. & Duroux J.L. 2003.- Antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative properties of sixteen plant extracts used in the Limousin countryside as herbal tea. Food and chemistry. 3: 399-407.
- [20] Lamien-Meda A., C.E. Lamien, M.M.Y. Compaore, R.N.T. Meda and M. Kiendrebeogo., 2008.- Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. Molecules, 13: 581-594.

*Partie II :*

*Expérimentales*

# *Chapitre IV:*

## *Matériel et Méthodes*



## 1 Matériel

### 1-1 Matériel végétal :

La plante qui a fait objet dans notre étude est la Menthe Poivrée.

### 1-2 Matériel utilisé :

- ✓ Hydrodistillateur (simple)
- ✓ Réfractomètre
- ✓ Etuve
- ✓ Plaque chauffante
- ✓ Balance de précision

### 1-3 Produits et réactifs chimiques :

Plusieurs réactifs chimique et solvants ont été utilisés dans nos expériences, parmi ces produits :

Acide sulfuriques ( $H_2SO_4$ )	Acide chlorhydrique (HCl)	Chlorure ferrique ( $FeCl_3$ ),
Ammoniac ( $NH_4OH$ )	Magnésium (Mg)	Hydroxyde de sodium (NaOH)
Chloroforme ( $CHCl_3$ )	Réactif de Wagner	Méthanol

## 2 Méthode :

La plante, fraîchement récoltée, est laissée sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré pendant dix jours, puis broyée manuellement. La poudre obtenue est ensuite conservée dans des flacons en verre fermes jusqu'à l'utilisation ultérieure pour le screening phytochimique et l'extraction de l'huile essentielle.

### 2-1 Préparation des extraits :

#### 2-1-1 Extrait aqueux :

Consiste à introduire 2g de poudre végétale dans 40 ml d'eau bouillante qu'on laisse infuser pendant 15 minutes. Ensuite, on filtre et on rince avec un peu d'eau chaude de manière à obtenir 40 ml de filtrat.

#### 2-1-2 Extrait méthanoïque :

Consiste à introduire 1g de matériel végétal dans 20 ml de méthanol puis on le laisse macérer pendant 24h.

### 2-2 Screening phytochimique :

C'est une technique expérimentale qui nous permet de détecter les différents groupes chimiques contenus dans un organe végétal. Ce sont des réactions physicochimiques bases sur des réactions de précipitations et ou de colorations. Ces dernières permettent de définir la présence ou l'absence d'une substance chimique.

Les groupes phytochimiques sont nombreux, mais on peut citer les principaux : les alcaloïdes, les polyphénols (flavonoïdes, anthocyanes, tannins), les saponosides, les stéroïdes, les coumarines, les stérols, les terpènes, ..... Différents méthodes ont été adoptées, soit par macération, décoction, infusion ou poudre avec différent solvant selon le Protocol suivi.

➤ **2-2-1 Détection des flavonoïdes :**

À 1 ml de chaque extrait on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et quelques milligrammes de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange. [1]

➤ **2-2-2 Détection des tanins :**

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à 2 ml de chaque extrait quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés). [2,3]

➤ **2-2-3 Détection des saponines :**

À 5ml de chaque extrait on ajoute 10 ml de l'eau distillée, le tout est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Puis, le mélange est laissé au repos pendant 15 min. La persistance de la mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence des saponines. [4]

➤ **2-2-4 Détection des substances polyphénoliques :**

La caractérisation des polyphénols est basée sur une réaction au chlorure ferrique ( $\text{FeCl}_3$ ), à 2 ml de l'extrait, une goutte de solution alcoolique de chlorure ferrique à 2% est ajoutée. L'apparition d'une coloration bleu noirâtre ou verte plus ou moins foncée fut le signe de la présence des polyphénols. [5]

➤ **2-2-5 Détection des anthocyanes :**

La présence des anthocyanes dans un décocté ou un infusé est indiquée par une coloration rouge qui s'accroît par l'addition de HCl dilué et vire au bleu-violacé verdâtre par l'ajout d'ammoniaque. [6]

➤ **2-2-6 Détection des terpénoïdes :**

À 5 ml de chaque extrait on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré, la formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes. [7,8].

➤ **2-2-7 Détection des alcaloïdes :**

On prend 1 ml de l'extrait à analyser dans un tube à essai et ajouter 5 gouttes de réactif de Wagner, l'apparition d'un précipité marron chocolat révèle la présence des alcaloïdes

\* **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de I<sub>2</sub>. Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée. [9,10]

➤ **2-2-8 Détection des anthraquinones :**

Pour la détection des anthraquinones, à 10 ml d'extrait sont ajoutés 5 ml de NH<sub>4</sub>OH à (10%). Après agitation, l'apparition d'un anneau rouge indique la présence d'anthraquinones. [11]

➤ **2-2-9 Détection des quinones :**

Libres Sur un volume de chaque extrait quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres. [12]

### 2-3 Huiles essentielles

#### 2-3-1 Procédé d'extraction des huiles essentielles :

Les HE ont été préparées par hydrodistillation, dans un ballon de 1000 ml contenant 2 litres d'eau distillée et surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur et 2 cm de diamètre reliée à un réfrigérant. Les extractions ont été répétées trois fois pour chaque HE afin de récupérer des volumes considérables. Après l'élimination des traces d'eau par du sulfate de sodium anhydre, les HE obtenues ont été conservées dans des tubes en verre fumé à l'abri de la lumière et à une température entre 0 et 4 °C afin de préserver jusqu'à leur utilisation pour les tests de l'activité antioxydante.



Figure 01: Montage expérimental de l'hydrodistillation

### 2-3-2 Rendement :

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

$$R_{HE} (\%) = \frac{M_{HE}}{M_s} \cdot 100$$

**R<sub>HE</sub>**: rendement de l'huile essentielle de la menthe %

**M<sub>HE</sub>**: masse de l'huile essentielle obtenue en gramme

**M<sub>s</sub>**: masse en gramme de la matière végétale sèche

### 2-3-3 Evaluation chimique de l'activité antioxydante :

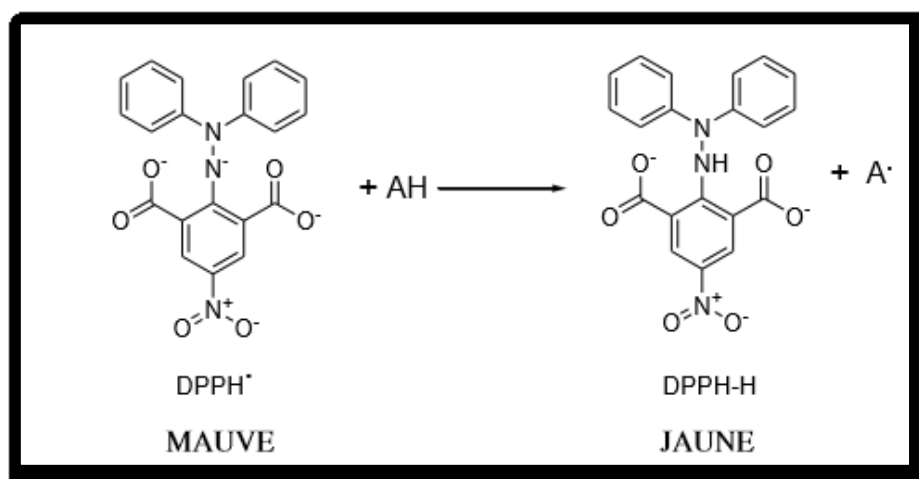
Il existe plusieurs méthodes spectrophotométriques de détermination de l'activité antioxydant. Les tests courants utilisés à cet effet sont :

- ✚ Le test de **ABTS** (acide 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- ✚ Le test de **DPPH** (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).
- ✚ Le test de **FRAP** (Ferric Reducing Antioxidant Power).

De notre part, nous avons choisi le test au DPPH pour sa facilité de mise en œuvre en vue d'évaluer l'activité antioxydant de nos huiles essentielles.

#### 2-3-3-1 Principe du test

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH) est un radical libre stable de coloration violette foncée et absorbe à 517 nm, lorsqu'il est réduit, en présence des composés anti radicalaires, il change de couleur en virant au jaune [13]. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antioxydant de l'échantillon [14].



**Schéma 1 : Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH' entre l'espèce radicalaire DPPH' et un antioxydant (AH) [15].**

#### **2-3-3-1-2 Mode opératoire :**

Le test est basé sur le protocole de Yang et al., [16] en y apportant quelques modifications. Le test consiste donc à mélanger dans un tube à hémolyse en verre, 1000  $\mu\text{l}$  d'une solution de DPPH à 250  $\mu\text{M}$  avec 1000  $\mu\text{l}$  de chaque extrait préparé à différentes concentrations (0 à 140  $\mu\text{g/ml}$ ), ou d'acide ascorbique (vitamine C) préparé à des concentrations comprises entre 0 et 140  $\mu\text{M}$ . L'absorbance est mesurée à 517 nm dans un spectrophomètre, après avoir laissé incuber la réaction à 25°C à l'abri de la lumière pendant 25 min.

**Référence bibliographique :**

- [1] A. Mibindzou-Mouellet, "Screening phtochimique de deux espèces de plantes : *Crotalia retusa* L (papilionaceae) et *Hallea ciliata* Aubrev & Pellegr. (rubiaceae) récoltées au Gabon" Thèse de doctorat, Mali, 2004, page : 88.
- [2] A. Disasi, "Etude phytochimiques et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales de Kisangani (haut-zaïre)" Mémoire inédit. Fac. Sc, 1988, page : 14-16.
- [3] L. Delaude, "Contribution à l'étude de la structure d'une saponine extraite d'une securidaceae *Longipedunculata*" Thèse inédite. Université de liège, Belgique, 1969.
- [4] A. Fournet, "Plantes médicinales congolaises, *Meiocarpidium*, *Limaciopsis*" Trav et doc de l'orstom, Paris, 1979.
- [5] Békro Y.A, Békroj A.M, Bouab.B, Trab F.H. and Ehilé E.E (2007). Etude ethnobotanique et Screnning phytochimique de *Caesalpinia benthamiana*. (Bai) Herend et Zarucchi (caesalpiniaceae). Rev. Sci. Nat, 4 (2): P 217-225.
- [6] Wagner H et Bladt S, 1984. Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas EdSpringer, New-York. P 320.
- [7] J. Ribéreau-Gayon, E. Peynaud, "Les composés phénoliques des végétaux. Traité d'oénologie" Ed : Dunod, Paris, 1968, page : 254.
- [8] N. Dohou, "Approche floristique, ethnobotanique, phytochimique et étude de l'activité biologique de *thymeleae lythroïdes*" Thèse de doctorat, Maroc, 2004, page : 59.
- [9] Trease E et Evans W.C. (1987). Pharmacognosy Billiaire. Ed. Tindall London. 13: P 61-62.
- [10] Harborne J.B, (1998). Phytochemical Methods: A guide to moderne techniques of plant analysis 3e ed: Chapman and hill. P 303.
- [11] Oloyede OI. (2005). Chemical profile of Unripe Pulp of *Carica papaya*. Pak J Nutr; 4. P379 - 381.
- [12] K.R. Brain, T.D. Tumer, "Practica evaluation of phytopharmaceuticals. Wright sientehcnica" Ed: 1.Bristol, 1975, page : 144.
- [13] B.S. Maataoui, A. Hmyene, S. Hilali, "Activités anti-radicalaires d'extraits de jus de fruits du figuier de barbarie (*Opuntia ficus indica*)" Lebanese Science Journal, 2006, Vol. (1), page: 3.
- [14] C. Popovici, I. Saykova, B. Tylkowski, "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH " E-Revue de génie industriel [en ligne]. Numéro 4, 2010, page : 1313-8871.

[15] T. Michel, "Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*)" Thèse de Doctorat de l'université d'Orléans. Discipline : Chimie Analytique – Phytochimie, France, 2011, page : 289.

[16] H. Yang, P. Protiva, B. Cui, C. Ma, S. Baggett, V. Hequet, "New bioactive polyphenols from *Theobroma grandiflorum* ("cupuacu")" *J Nat Prod*, 2003, Vol. (66), page : 1501.

# *Chapitre V:*

## *Résultats et discussion*



## 1 Screening phytochimique :

Le test phytochimique nous a permis de détecter les différentes familles des composés existantes dans les feuilles et les tiges de notre plante par des réactions de précipitation ou de coloration en utilisant des réactifs spécifiques à chaque famille de composés. L'étude phytochimique est résumée dans le tableau ci-dessus :

Tableaux 1 : Résultats du screening phytochimique des feuilles et des tiges de (Menthe)

Groupe chimique	Partie Unitaires	Extrait	Résultats
<b>Flavonoïdes</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
<b>Tannins</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	<b>+ gallique</b>
		Extrait (Methanol)	<b>+catéchique</b>
	Tiges	Extrait (Aqueux)	<b>+gallique</b>
		Extrait (Methanol)	<b>+catéchique</b>
<b>Saponines</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	-
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	-
		Extrait (Methanol)	-
<b>polyphénoliques</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	+
	Tiges	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	+
<b>Anthocyanes</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
<b>Terpénoïdes</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
<b>Alcaloïdes</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	<b>+ marron chocolat</b>
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	-
		Extrait (Methanol)	-
<b>Anthraquinones</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	-
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	+
		Extrait (Methanol)	-
<b>Quinones</b>	Feuilles	Extrait (Aqueux)	-
		Extrait (Methanol)	-
	Tiges	Extrait (Aqueux)	<b>+ rouge</b>
		Extrait (Methanol)	<b>+ jaune</b>

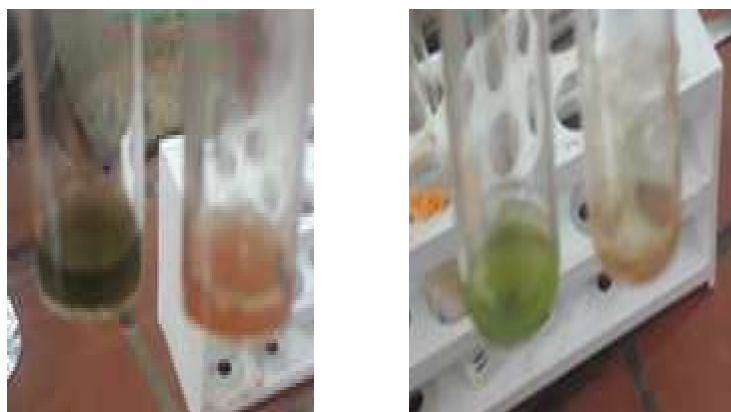
Les résultats sont interprétés comme suit :

**Présence (+) Absence (-)**

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous avons noté que la menthe poivre, est très riche en polyphénols surtout pour les deux extraits (aqueux, méthanoïques).

➤ **Flavonoïdes :**

Les flavonoïdes sont moyennement positifs dans l'extrait aqueux et négatif dans l'extrait méthanoïque. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 01.



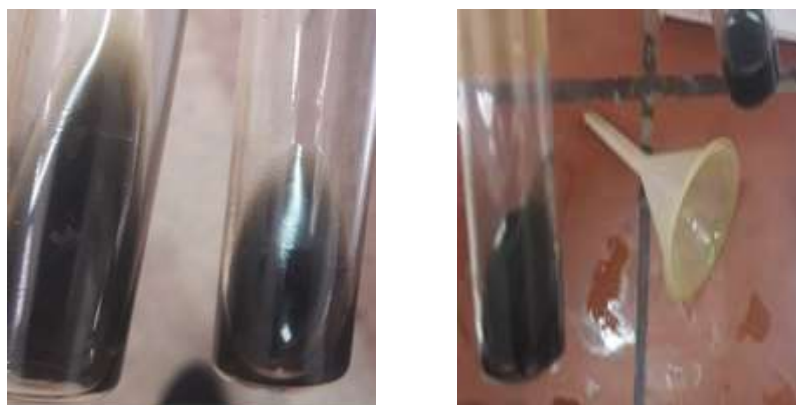
*Feuilles*

*Tiges*

**Figure 01:** Résultats de test des flavonoïdes des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Tanins :**

Le test de tanins (catéchique, gallique) a montré que les deux organes feuilles et tiges de menthe poivre contiennent des teneurs considérables en tanins. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 02.



*Feuilles*

*Tiges*

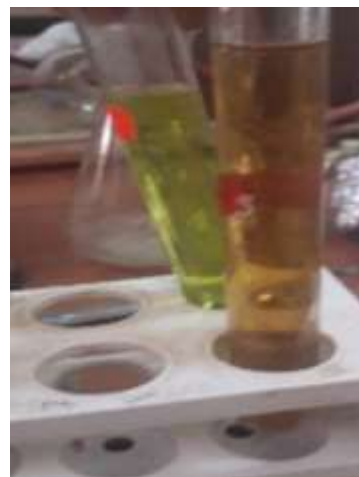
**Figure 02:** Résultats de test des Tanins des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Saponines :**

On note l'absence des saponines dans les deux extraits. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 03.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 03:** Résultats de test des Saponines des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Poly phénoliques :**

Concernant les Composés phénoliques on remarque que les deux organes d'études de notre plante menthe poivre sont riches en composé phénolique. Les résultats de ce test sont représentés dans la figure 04.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 04:** Résultats de test des Poly phénoliques des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Anthocyaniques :**

Les résultats de ce test ont montré l'absence des anthocyanes dans les feuilles et les tiges menthe poivre. Ces résultats de ce test sont présentés dans la figure 05.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 05:** Résultats de test des Anthocyaniques des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Terpénoïdes :**

Les terpénoïdes sont fortement positifs dans l'extrait aqueux et négatif dans l'extrait méthanoïque. Ces résultats de ce test sont présentés dans la figure 06.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 06:** Résultats de test des Terpénoïdes des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Alcaloïdes :**

Nous avons remarqué l'absence des alcaloïdes dans les tiges de notre plante, tandis que les alcaloïdes sont présents chez les feuilles (extrait aqueux), ces résultats de ce test sont présentés dans la figure 07.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 07:** Résultats de test des alcaloïdes des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Anthraquinones:**

Pour les dérivés Anthraquinones sont moyennement détectés dans les tiges (l'extrait aqueux) et négatif dans l'extrait méthanolique. Ces résultats de ce test sont présentés dans la figure 08.



*Feuilles*



*Tiges*

**Figure 08:** Résultats de test des Anthraquinones des feuilles et tiges de la menthe.

➤ **Quinones :**

Pour les quinones, on note une forte présence dans l'extrait méthanoïque et aqueux pour les tiges de la plante. Ces résultats de ce test sont présentés dans la figure 09.



*Feuilles- Tiges*

**Figure 09:** Résultats de test des Quinones des feuilles et tiges de la menthe.

## 2-Rendement en HE :

L'HE a été extraite de la matière végétale sèche, le rendement en HE varie beaucoup avec la plante utilisée, les pratiques culturales, l'origine de la plante, le matériel employé et la méthode d'extraction. Du point de vue rentabilités en poids, Menthe poivrée présente un rendement satisfaisant (0.64%) non seulement.

## 3-Etude de l'activité anti-oxydante de nos huiles essentielles :

Nous avons déterminé la  $IC_{50}$  de l'huile essentiel de la menthe poivrée et l'huile commerciale. D'une part, nous pouvons ainsi comparer leurs activités et nous allons essayer d'établir une relation entre l'activité anti-oxydante et celle de l'acide ascorbique. Les valeurs des  $IC_{50}$  sont présentées dans le tableau 2. Les  $IC_{50}$  sur le test DPPH, sont données sur le même tableau (02).

**Tableau 2:** valeurs des concentrations inhibitrices du standard et d'huile essentielle de la menthe poivrée et de l'huile commerciale.

	Equation de la courbe de tendance	Concentration inhibition $IC_{50}$			Coefficient de détermination $R^2$
		(mg/ml)	mg d'EAA/g d'ES	mg d'EAA/g d'ES	
<b>AA</b>	$y=0.813x+49.96$	$8.665 \cdot 10^{-6}$	/	/	0.928
<b>HE</b>	$y=0.082x+49.21$	$9.634 \cdot 10^{-3}$	0.899	8.275	0.961
<b>HEc</b>	$y=0.048x+48.95$	$21.875 \cdot 10^{-3}$	0.396	/	0.971

**AA** : Acide ascorbique

**HE** : Huile essentielle obtenue

**HEc** : Huile essentielle commerciale

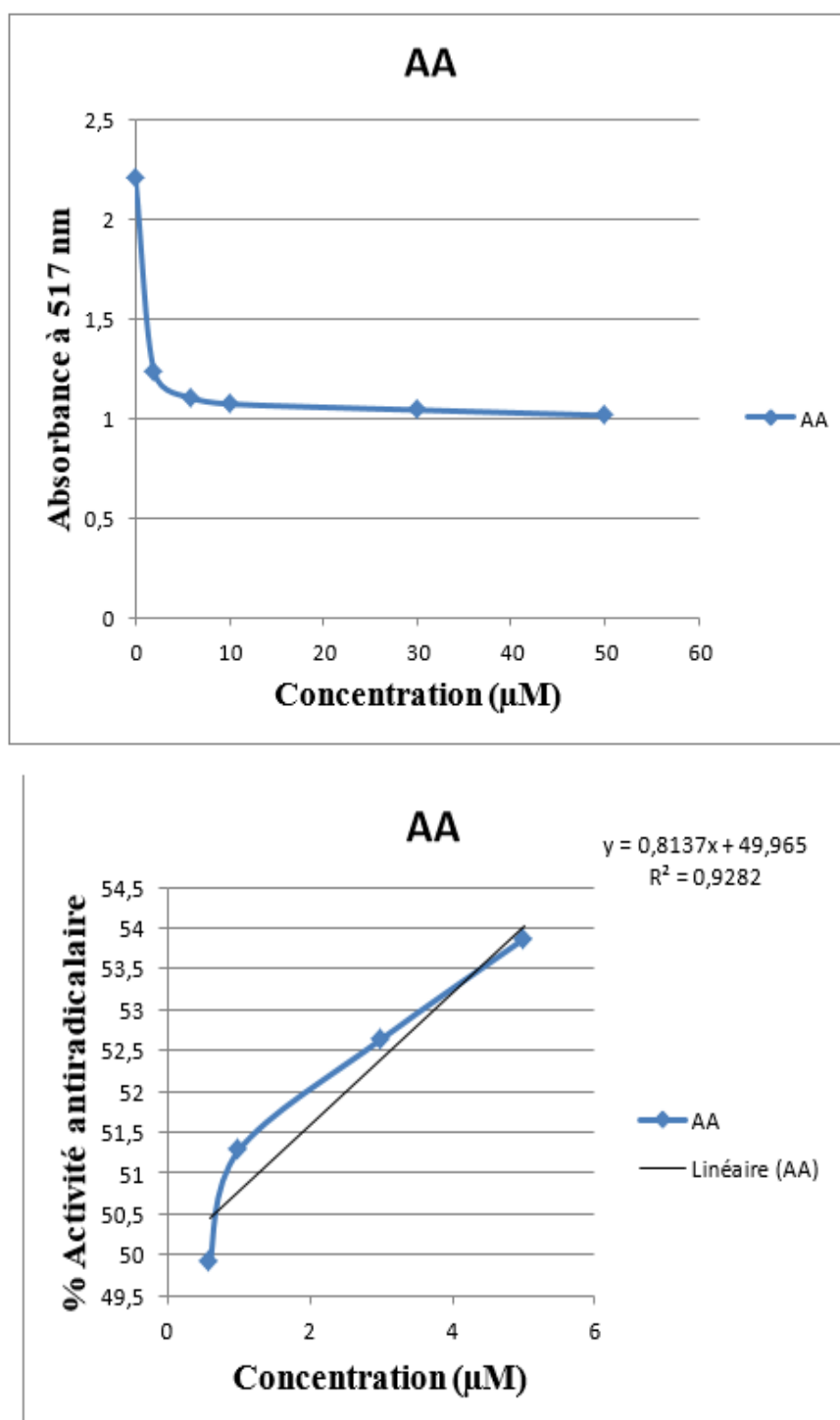


Figure 10 : Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'AO de l'Acide ascorbique

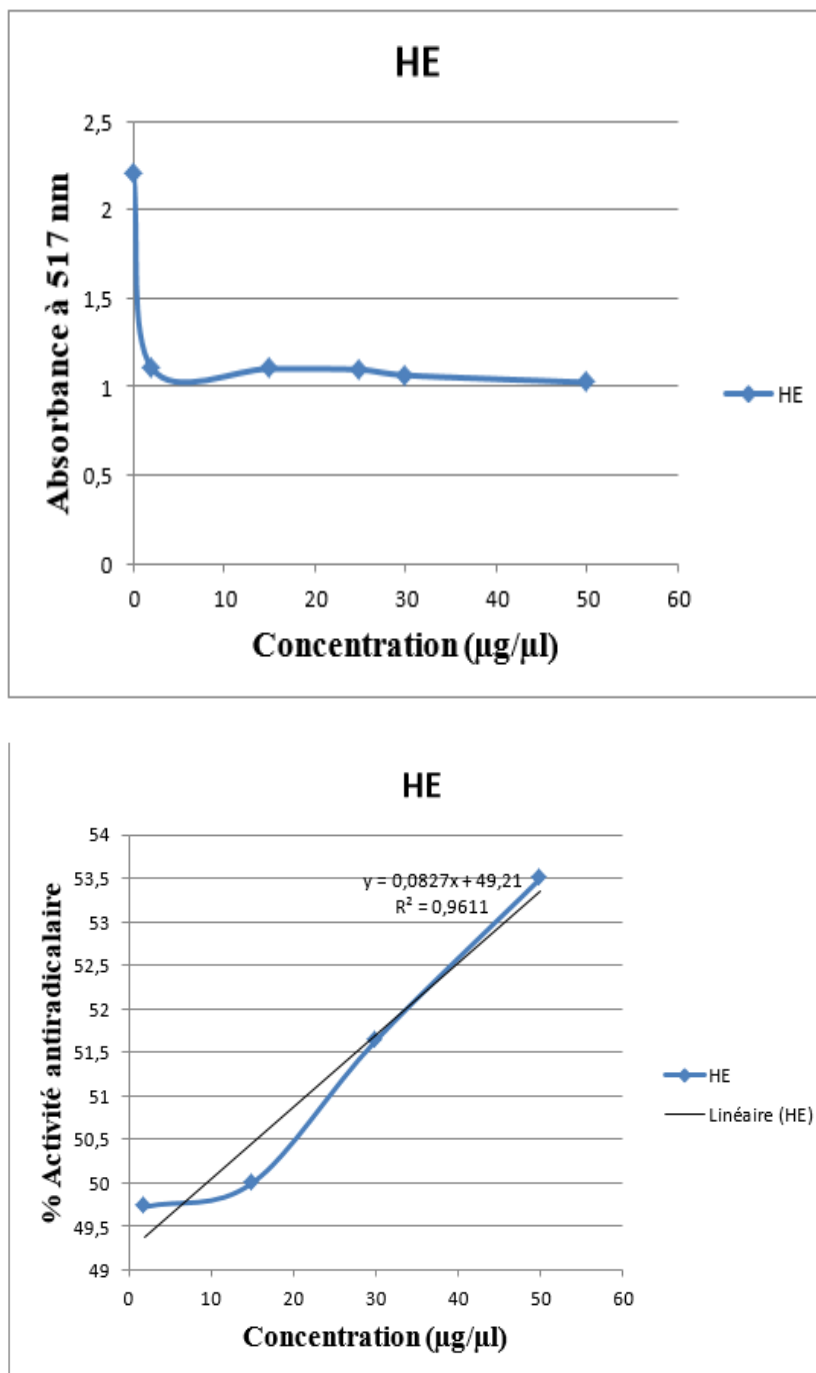


Figure 11 : Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'HE huile essentielle



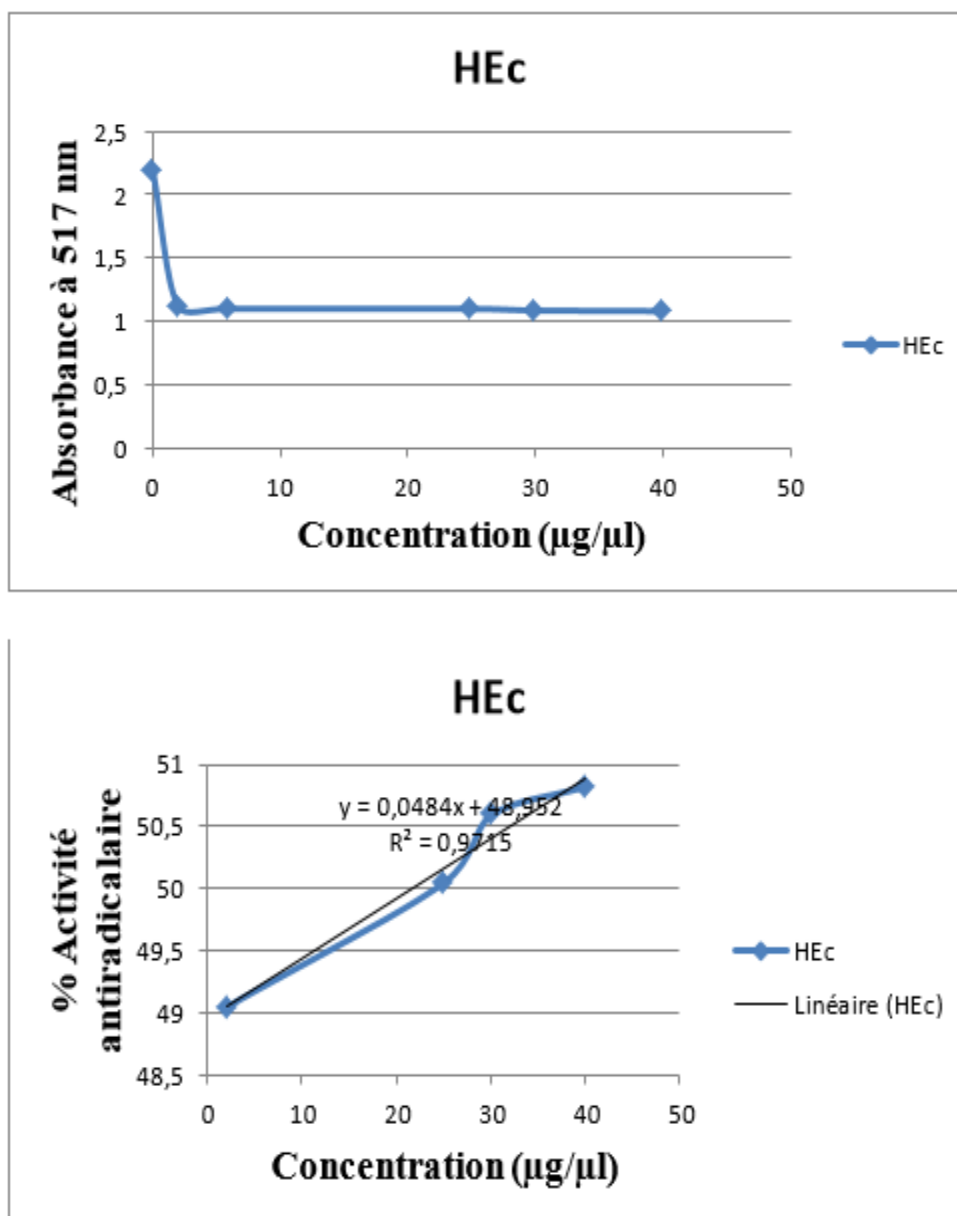


Figure 12: Courbes d'étalonnage et de pourcentage d'HEc huile essentielle commerciale

Les résultats obtenus montrent que l'huile essentiel de notre plante possède une activité anti-oxydante plus élevé que celle de l'huile essentiel commerciale avec une  $IC_{50} = 9,634 \cdot 10^{-3}$  mg/ml et  $21,875 \cdot 10^{-3}$  mg/ml respectivement. Ces valeurs sont comparés avec celle de l'acide ascorbique qui a une  $IC_{50} = 8,665 \cdot 10^{-6}$  mg/ml. Il semble que l'huile commerciale n'ai certainement pas aussi purs que celle extraite de notre plante.

La courbe des pourcentages d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations de extrait de huile nous ont permis de déterminer les concentrations d'inhibition à 50% ( $IC_{50}$ ). Celle-ci exprime la concentration de l'échantillon exigée pour réduire le DPPH en solution de 50%.

La détermination de l'activité anti-oxydante de l'extrait par le test au DPPH a révélé que l'HE de Menthe a une activité anti-oxydante de 45.04  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Quant à l'acide ascorbique une  $\text{IC}_{50}$  est de 19.73  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .

L'activité réductrice de l'HE de Menthe est plus que 2 fois inférieure à celle de l'acide ascorbique.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

De nos jours, l'utilisation des plantes médicinales en phytothérapie connaît une croissance remarquable, car elles sont, et restent toujours, la source la plus fiable des principes actifs, connus pour leurs effets thérapeutiques, douces et sans effets secondaires.

Les huiles essentielles peuvent rentrer dans beaucoup d'applications, à savoir l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, l'industrie cosmétique, la parfumerie, etc. Ces produits naturels étaient et restent toujours une source inépuisable de structures complexes et diverses.

Parmi les plantes médicinales nous avons choisi la Menthe Poivrée car L'huile essentielle de cette plante peut être utilisée de façons très différentes pour un large spectre de maladies et symptômes. Néanmoins, il est recommandé de s'adresser à un professionnel afin de recueillir des informations personnalisées et sécurisées, adaptées à votre situation médicale, votre profil et votre âge.

Notre travail est réalisé dans le cadre d'évaluer l'activité antioxydant de notre huile essentielle de la Menthe Poivrée dans la région de Tairét. Afin d'extraire nos l'huile essentielle, nous avons utilisé l'hydrodistillation.

Le pouvoir antioxydant de cette huile, a été mesuré à l'aide de la méthode de DPPH, et les résultats obtenus montrent que l'huile essentiel de notre plante possède une activité antioxydante plus élevé que celle de l'huile essentiel commerciale avec une  $IC_{50} = 9,634.10^{-3}$  mg/ml et  $21,875.10^{-3}$  mg/ml respectivement. Ces valeurs sont comparés avec celle de l'acide ascorbique qui a une  $IC_{50} = 8,665.10^{-6}$  mg/ml.