



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
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :
Bensaad Ali
Benzerrouk Abedessalem
Thème

**Optimisation de l'extraction des huiles essentielles
de *Mentha pulegium* L. récolté dans la région de Tiaret et
caractérisation de leur qualité physico-chimique**

Soutenu publiquement le 14/07/2021

Jury:

President: Mr. KADDAR B

Encadreur: M^{lle} MEZOUAR Dj

Examineur: M^r ALI-NEHARI AEK

Grade

MCB

MCB

MCA

Année Universitaire 2020-2021

Remerciement

En tout premier lieu, nous remercions ALLAH, Tout Puissant, de nous avoir donné l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

En guise de reconnaissance, nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribués de près ou de loin au bon déroulement de ce modeste travail.

On commence par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à notre encadreur **Dr. MEZOUAR Dj** qui nous a honorés en acceptant de diriger ce travail, pour tous les efforts qu'elle a consenti tout au long de l'élaboration de ce travail. Ses encouragements et ses précieux conseils. pour ses conseils et l'intérêt incontestable qu'il a porté et on exprime pour eux notre respect et nous nous trouvons incapable de formuler nos remerciements à eux.

Nos chaleureux remerciements vont aux **Dr. ALI-NEHARI AEK** et **Dr. KADDAR B** pour l'honneur d'accepter de juger notre travail,

Dans l'impossibilité de citer tous les noms, nos sincères reconnaissances vont à tous ceux et celles, qui ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

*En guise de reconnaissance envers mon **DIEU** le **Tout Puissant**.*

*Je dédie ce modeste travail à mes chers parents, ma mère **RABIA** et mon père **ABEDELKADER** pour leurs sacrifices et leurs soutiens tout au long de mes études.*

***A** mes sœurs et mes frères. À toute la famille **BENSAAD** et **BOUKECHRER**.*

***A** tous mes enseignants.*

***A** mes amis que j'ai vécus avec eux des beaux moments au cours de mon parcours.*

***A** mes collègues de la promo 2021 je porte un grand respect pour eux.*

***A** tous les amis dans ma vie*

***A** **ZITOUNI** pour son aide pour la réalisation de ce travail.*

ALI.

Dédicace

Je dédie ce travail au bon dieu الحمد و الشكر لله

Ainsi qu'à ma précieuse et chère famille spécialement
ma mère et mon père الله يرحمهم, ma femme, mes frères et
sœurs, mes amis et tout les gens que je connaisse.



Abdessalem.

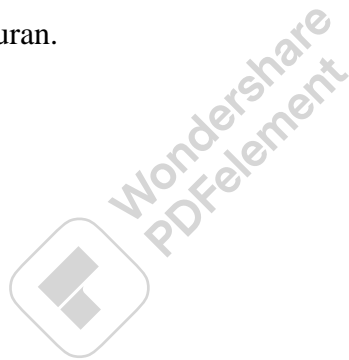
Résumé

L'objectif de notre étude vise à l'extraction et la détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *Mentha Pulegium L.*

L'extraction des huiles essentielles de *Mentha Pulegium L* par hydrodistillation réalisée sur des échantillons provenant des deux régions Tiaret et Yakouren 'Tizi Ouzou' ont donné les rendements de 0.18% et 0.15% successivement.

L'étude des paramètres physico-chimiques a été déterminée par la densité relative qui a donné 0.933, la mesure du pH 5 pour l'huile de Yakouren et 5.22 pour celle de Tiaret. A propos de l'indice d'acide, on note une valeur de 1.12 pour Yakouren et 0.28 pour Tiaret. Tandis que, l'indice de réfraction est de égale à 1.474 pour Yakouren et et 1.332 pour Tiaret. Ces paramètres permettent de déterminer la qualité de l'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* D'après nos résultats, on peut dire que l'huile de Yakouran est de bonne qualité physico-chimique.

Mots clés : *Mentha pulegium L.*, hydrodistillation, huiles essentiels, caractéristiques physicochimiques, Tiaret, Yakouran.



ملخص

تم استخراج الزيوت العطري من النعناع البري عن طريق التعرية المائية التي أجريت على عينات من ولاية تيارت و تيزي وزو بالضبط في قرطوفة و يكوران مما أسفر عن مردودية 0.18 و 0.15

مكنت دراسة المعايير الفيزيائية و الكيميائية من ضبط الكثافة للزيت 0.933, مؤشر الاس الهروجيني 5 بالنسبة ليكوران و 5.22 تيارت, مؤشر الحموضة و الاسترة 1.12 يكوران و 0.28 تيارت, معامل الانكسار 1.474 يكوران و 1.332 تيارت. كل هاته الإعدادات مكنت من ضبط جودة الزيت العطري للنعناع البري و من نتائجنا, يمكننا القول أن زيت يكوران ذو جودة فيزيائية كيميائية جيدة

كلمات مهمة: النعناع البري, التعرية المائية, الزيت العطري, الخصائص الفيزيائية والكيميائية, يكوران, تيارت.



Abstract

The objective of our study is to extract and determine the physicochemical characteristics of the essential oil of *Mentha Pulegium L.*

The extraction of essential oils from *Mentha Pulegium L* by hydrodistillation carried out on samples from the two regions Tiaret and Yakouren 'Tizi Ouzou' gave yields of 0.18% and 0.15% successively.

The study of the physicochemical parameters was determined by the relative density which gave 0.933, the pH measurement of 5 for the Yakouren oil and 5.22 for that of Tiaret. Regarding the acid number, we note a value of 1.12 for Yakouren and 0.28 for Tiaret. Whereas, the refractive index is equal to 1.474 for Yakouren and and 1.332 for Tiaret. These parameters are used to determine the quality of *Mentha pulegium L* essential oil. From our results, we can say that Yakouran oil is of good physicochemical quality.

Keywords: *Mentha pulegium L.*, hydrodistillation, essential oils, physicochemical characteristics, Tiaret, Yakouran.



Liste des abréviations

ATCC: American Type Culture Collection

ATF: Antifongique

CPG: Chromatographie en Phase Gazeuse

D : Dilution

L: Linné

UFC : Unités Formant Colonies

OMS: l'Organisation Mondiale de la Sante

AFNOR : Association Française de Normalisation

HE : Huile essentielle

IA : Indice Acide

IC : concentration d'inhibition

IE : Indice Ester

IS : Indice Saponification

R HE: Rendement huile essentielle

N: Normalité

Abs: Absorbance

d₂₀: densité relative 20°C



Liste des figures

- **Figure 0 1:** Feuille de la menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*).....6
- **Figure 02 :** Aire de répartitions des menthes dans le monde.....7
- **Figure 03 :** Localisation de la région de TIARET.....8
- **Figure 04:** Carte de la situation géographique de la zone d'étude (Yakouren).....9
- **Figure 05 :** Protocole expérimental.....10
- **Figure 06 :** Préparation de la plante.....11
- **Figure 07 :** Dispositif de l'hydrodistillation (photo originale).....12
- **Figure 08 :** Dispositif de l'hydrodistillation.....12
- **Figure 09 :** Quantités obtenues des huiles essentielles (photo originale).....13
- **Figure 10 :** Détermination de la densité relative (photo originale).....13
- **Figure 11 :** Réfraction (photo originale).....15
- **Figure12 :** Réfractomètre (photo originale).....15
- **Figure 13 :** Bandelette PH (photo originale).....16
- **Figure 14 :** pH-mètre (photo originale).....16
- **Figure 15 :** Détermination de l'indice de saponification (photo originale).....18
- **Figure 16:** Comparaison du rendement en huiles essentielles de différente labiés
.....22

Liste des tableaux

Tableau 01 : Classification botanique.....	5
Tableau 02 : Classification botanique.....	6
Tableau 03 : Caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles.....	20
Tableau 04 : Rendements des deux huiles essentielles.....	21
Tableau 05 : Tableau comparatif du pH.....	23
Tableau 06 : Valeurs de l'indice de réfraction.....	24
Tableau07 : Valeurs d'indices acide et d'ester des deux huiles essentielles.....	24



Table des matières

Liste des abréviations.....	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux.....	iii
Introduction	1
Matériels et méthodes.....	4
II. Matériel végétal	5
II.1. Matériel végétal.....	5
II.1.1. Lamiacées.....	5
II.1.1.1. Classification botanique de lamiacées.....	5
II.1.2. <i>Mentha Pulegium L.</i>	5
II.1.2.1. Classification botanique de <i>Mentha pulegium L.</i>	6
II.1.2.2. Disposition géographique.....	7
II.1.2.3. Propriétés et utilisations.....	7
II.2. Prévenance et récolte du matériel végétale.....	8
II.2.1. Station 1 : Tiaret.....	8
II.2.2. Station 2 : Yakouren.....	9
II.3. Préparation des plantes.....	11
II.3.1. Dispositif expérimental.....	11
II.3.1.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.....	11
II.4. Calcul du rendement.....	12
II.5. Indices physiques.....	13
II.5.1. Densité relative	13
II.5.2. Indice de réfraction.....	14
II.5.3. pH.....	15
II.6. Indice chimique.....	16
II.6.1. Indice d'acide.....	16
II.6.2. Indice de saponification.....	17
II.6.3. Indice d'ester	18
III .Résultats et discussion.....	19
III.1. Caractéristique physicochimiques des huiles essentielles étudiées.....	20
III.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.....	20
III.3. Rendement.....	21
III.4. Caractères physiques	22

III.4.1. Densité relative.....	22
III.4.2. Mesure du pH.....	23
III.4.3. Indice de réfraction	23
III.5. Indices chimiques.....	24
III.5.1. Indice d'acide, d'ester	24
Conclusion.....	27
Références bibliographiques.....	28
Annexes.....	31



Introduction

Introduction

Un monde, une plante, une civilisation, une science, un scientifique donne naissance à différentes études permettant de découvrir l'utilité et la présence de la végétation dans la vie humaine ainsi son utilisation dans différents secteurs médicaux, agro-alimentaire, pharmaceutique, thérapeutique, culinaire, économique...etc (**Boullard, 2001**).

L'huile essentielle retrouvée parmi plusieurs variétés de plante, étant une essence naturelle des plantes aromatiques se différencie des autres par présence de certains composants très spécifiques. L'huile essentielle ou parfois essence végétale connue depuis les anciennes civilisations et utilisée jusqu'à aujourd'hui, sont des composés aromatiques volatils hydrophobes obtenus par différentes méthodes chimiques et physiques. Ce sont des métabolites secondaires végétaux retrouvés dans les végétaux supérieurs à faible rendement à l'exception de quelques plantes comme le bouton floral de girofle 150ml/kg (**Lardry et Haberkorn, 2007 ; Bouyahya et al., 2018**).

On retrouve d'autres définitions et nominations dans l'organisation internationale comme les exsudats, résines, gommes florales, épices, aromes. Ainsi les huiles essentielles font partie des résidus du métabolisme végétal obtenu par photosynthèse. Retrouvées dans les fleurs, les feuilles, les organes souterrains, fruits, graines, le bois, l'écorce et parfois on les trouve même aux seins de structures cellulaires spécialisées. Ces huiles essentielles ont un rôle défensif dans la plante afin de se protéger des agressions externes et un rôle dans l'équilibre écologique.

Les huiles essentielles sont caractérisées par de nombreuses propriétés physiques : peu solubles dans l'eau, sensibles à l'oxydation, leur point d'ébullition est de 160 à 240 °C, leur indice de réfraction souvent élevé. Elles sont connues d'être incolores ou jaunes pâles, liquides à la température ambiante, volatils. Leur densité inférieure à 1 sauf pour la cannelle, giroflier, saffran (**Bouyahya et al., 2018**).

À propos de la composition chimique, les huiles essentielles sont composées de deux groupes terpénoïde et aromatique dérivés du phénylpropane. La composition biochimique d'une huile essentielle est très complexe qui lui donne ses propriétés, 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 essentielles à

Introduction

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 atome 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 huiles essentielles sont extraites par différentes voies et ces dernières sont adaptées à leurs propriétés physico-chimiques, leur volatilité et solubilité dans les solvants organiques. Parmi ces techniques d'extraction, on peut mentionner : entraînement à la vapeur d'eau, hydrodistillation, distillation à la vapeur saturée, enfleurage, extraction par solvant, extraction par percolation 'soxhlet', Extraction par micro-onde, et extraction par des gaz supercritiques (**Huete, 2012**).

Dès le passé, les huiles essentielles sont utilisées dans différents domaines. Dans le secteur pharmaceutique, elles sont utilisées généralement comme infusion 'menthe, verveine...' et dans d'autres utilisations à intérêt médicamenteux antiseptique externe, intérêt aromatique ou comme adjuvant. En parfumerie sont très impliquées dans l'industrie des cosmétiques et des produits d'hygiène même si le coût est souvent très élevé. Dans l'industrie agro-alimentaire, elles font partie des transformations alimentaires sous forme d'épice et d'arôme. Utilisées aussi comme matière première pour la synthèse des principes actifs médicamenteux, vitamines, des substances odorantes ...etc.

Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la qualité d'huile essentielles à savoir ; cycle végétatif, facteurs extrinsèques, chimiotypes, et les Procédés d'obtention.

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

Menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*) est l'une des plantes vivaces, se trouve dans les pays qui bordent la méditerranée, l'Europe et quelques régions d'Asie (**Hmiri et al., 2011**). La multiplication de la plante se fait par semis au printemps ou par division des racines

Introduction

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., 2011**) 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**).

L'Algérie est un pays riche en végétation. Afin de valoriser notre patrimoine végétal et créer une banque de données nous nous sommes intéressées à l'extraction d'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* par procédé d'hydrodistillation puis faire les différents contrôles physicochimiques

L'objectif de notre étude vise à l'extraction et la détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *Mentha Pulegium L.*

Ce mémoire est divisé en quatre parties

- La première partie consiste à une recherche bibliographique sur *Mentha Pulegium L* et les huiles essentielles ;
- La deuxième partie consiste à décrire le protocole et l'expérimentation suivis pendant l'étude de *Mentha pulegium L* et les résultats obtenus
- La troisième partie est consacré à l'interprétation et la discussion des résultats obtenus ;
- Enfin, cette étude est terminée par une conclusion générale.

Matériels et méthodes

II. Matériel végétal :**II.1. Matériel végétal****II.1.1. Lamiacées**

Les lamiacées nommées aussi labiacées est une famille angiosperme dicotylédone comprenant 258 genres et 6970 espèces (Bobineau, 2010). Elles sont très présentes et très répandues dans la flore algérienne (Guignard, 2001) et elles sont classées selon Bray 2005, comme suit :

II.1.1.1. Classification botanique de lamiacées :**Tableau 01 : Classification botanique (Guignard et Dupont, 2004)**

Lamiacées	
Embranchement	phanérogames
Sous embranchement	angiospermes
Classe	dicotylédone
Sous classe	gamopétale
Série	superiovariées tetracyclique
Super ordre	tubiflorales
Ordre	lamial
Famille	lamiacées

II.1.2. *Mentha Pulegium L*

Est une plante poussant spontanément dans des lieux humides plaines et montagnes, apparaisse en été a partir du mois de juillet sous forme d'herbe vivace à tige feuillé et fleuri appelé aussi la menthe pouliot (Fliou) localement (Baba Aissa, 1999 ; Mossaddak, 1995).



Figure 01. Feuille de la menthe pouliot (*Mentha pulegium L.*).

II.1.2.1. Classification botanique de *Mentha pulegium L*

Selon (Guignard et Dupont, 2004), la classification classique de *Mentha pulegium L* (Tableau 03) est :

Tableau 02 : Classification botanique (Guignard et Dupont, 2004).

<i>Mentha pulegium L.</i>	
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.1.2.2. Disposition géographique

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 Santa, 1963**).



Figure 02 : Aire de répartitions des menthes dans le monde. (**Chalchat et al., 2000**),

II.1.2.3. Propriétés et utilisations

Les feuilles et les sommités fleuries de *Mentha pulegium L.* sont des antiseptiques et ont été employées pour le traitement du froid, de l'intoxication, de la sinusite, du choléra, de la bronchite et de la tuberculose (**Zargari, 1990**), elles sont aussi des antioxydants (**ELGhorab, 2006**).

Cette espèce est très utilisée pour soigner les rhumes, les maux de gorge, la toux et les infections pulmonaires; elle est aussi un excellent digestif (**Hmamouchi, 2001**).

L'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* possède une activité antibactérienne (**Derwich et al., 2010**)(**Mahboubi, 2008**). L'odeur agréable du pouliot semble déplaire à certains parasites, et son pouvoir insecticide est bien établi. Autrefois, on se brulait dans des locaux infestés par les puces, et on l'utilisait aussi sous forme de lotion, sur le pelage des animaux domestiques pour les débarrasser de ces nuisibles parasites (**Baba Aissa, 1999**).

La menthe pouliot est surtout employée en Italie, par exemple pour agrémenter les farces et les pâtes relèves. Elle est également recommandée pour assaisonner le boudin ou les saucisses aux herbes (**Callery, 1997 ; Seidemann et Wurzmittel-Lexikon, 1997**).

En Algérie on l'apprécie beaucoup, si bien qu'on s'en sert pour préparer un plat traditionnel: le ragout de pomme de terre au pouliot batata fliou (**Baba Aissa, 1999**).

II.2. Prévenance et récolte du matériel végétale

Le choix de plante (*Mentha pulegium L.*) comme sujet d'étude dans le présent travail a été guidé non seulement par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une plante très abondante localement et relativement peu étudiées en Algérie. Sur cette base, nous avons étudié les huiles essentielles de cette plante.

Les échantillons de *Mentha pulegium L.* ont été récoltés en Mai 2021 dans la région de Tiaret et Tizi-Ouzou (Yakouren) (**Figure 3 et 4**) et identifiés par (**Dr. Ait Hammou**) M, botaniste au niveau de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

II.2.1. Station 1 : Tiaret

La ville de Tiaret est localisée au Nord-Ouest de l'Algérie, sur les hauts plateaux Ouest entre la chaîne Tellienne au Nord et la chaîne Atlasique au Sud (Figure 3). Elle s'étend sur une superficie de 20.399,10 Km², et est délimitée par les villes de Tissemsilt et Relizane au Nord, la ville de Laghouat au sud, les villes de Mascara et Saïda à l'Ouest et par la ville de Djelfa et Médéa à l'Est.

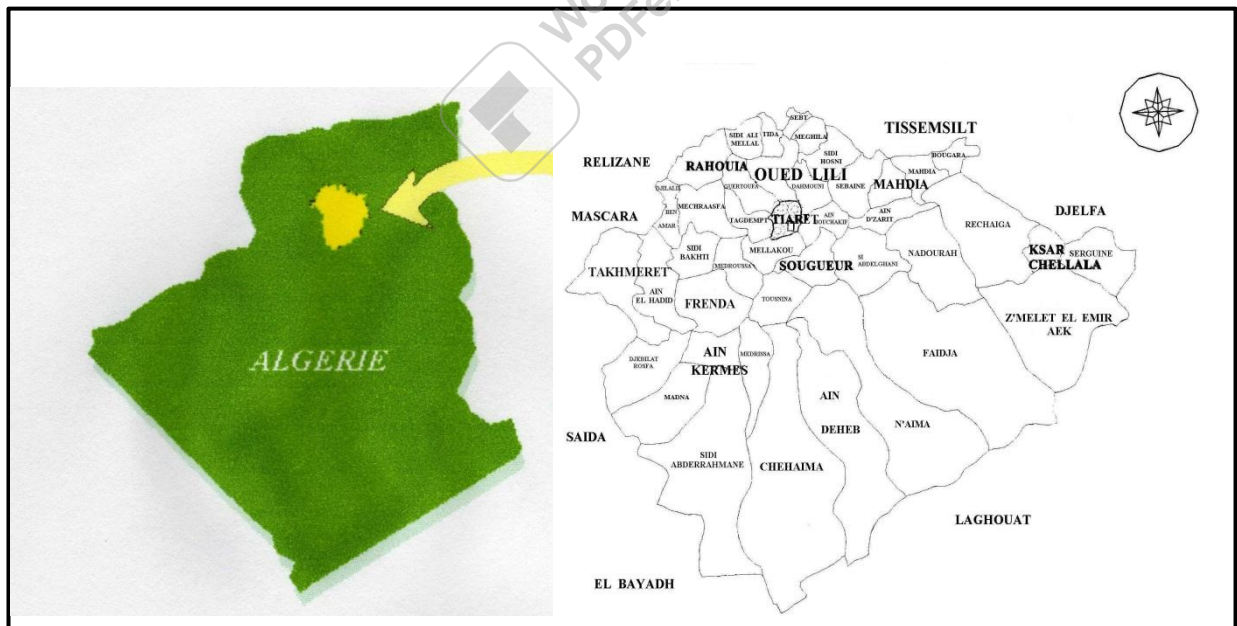


Figure 03. Localisation de la région de TIARET

Matériels et méthodes

II.2.2. Station 2 : Yakouren

La commune de Yakouren est située à 47.97 km à l'Est du chef-lieu de la wilaya de Tizi Ouzou et à 10,55 Km à l'Est de son chef-lieu de Daïra Azazga. Elle est accessible en empruntant soit (Pdau, 2016) :

- A partir de la RN 12 qui traverse la commune d'Est en Ouest sur 12,50 Km reliant la wilaya de Bejaia à celle de Tizi-Ouzou ;
- Par le Nord-ouest via le CW 158 en venant de la commune d'Akkerou et par le Nord-est via le CW 8 en venant de la commune de Zekri;
- Par le Sud en venant de la commune d'Ifigha et par l'Ouest en venant de la commune d'Azazga via des chemins intercommunaux.

D'une superficie de 79.30 km², La délimitation du territoire de la commune de Yakouren est donnée comme suit :

- Au Nord par les communes d'Akerou, Ait Chaffa et zekri ;
- Au Sud par les communes d'Ifigha et Idjeur ;
- A l'Ouest par la commune d'Azazga ;
- A l'Est par les communes de Zekri et Adekar (W. Bejaia).

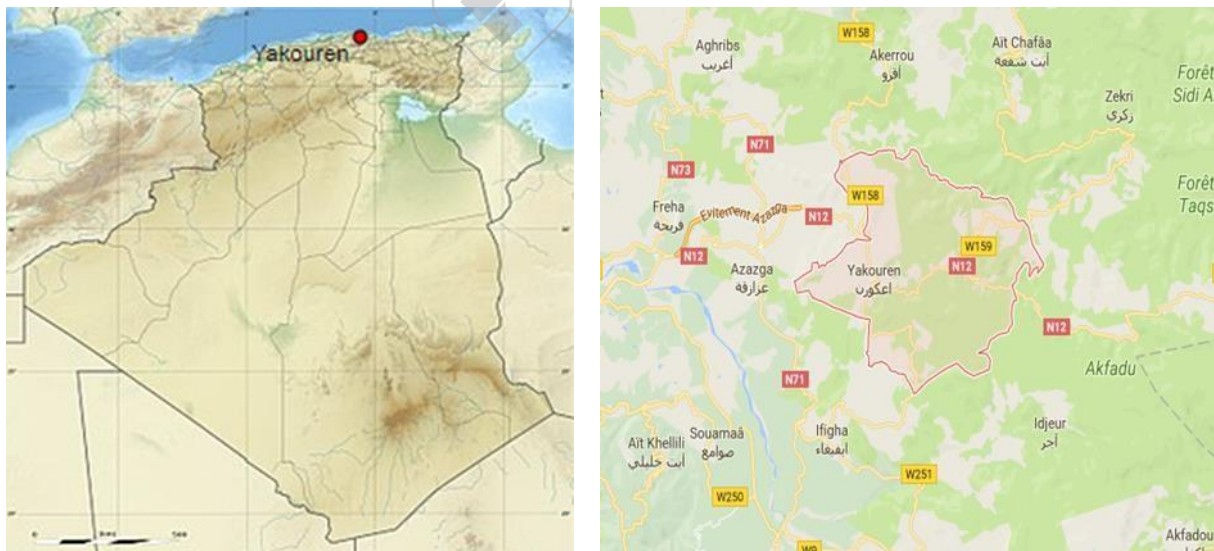
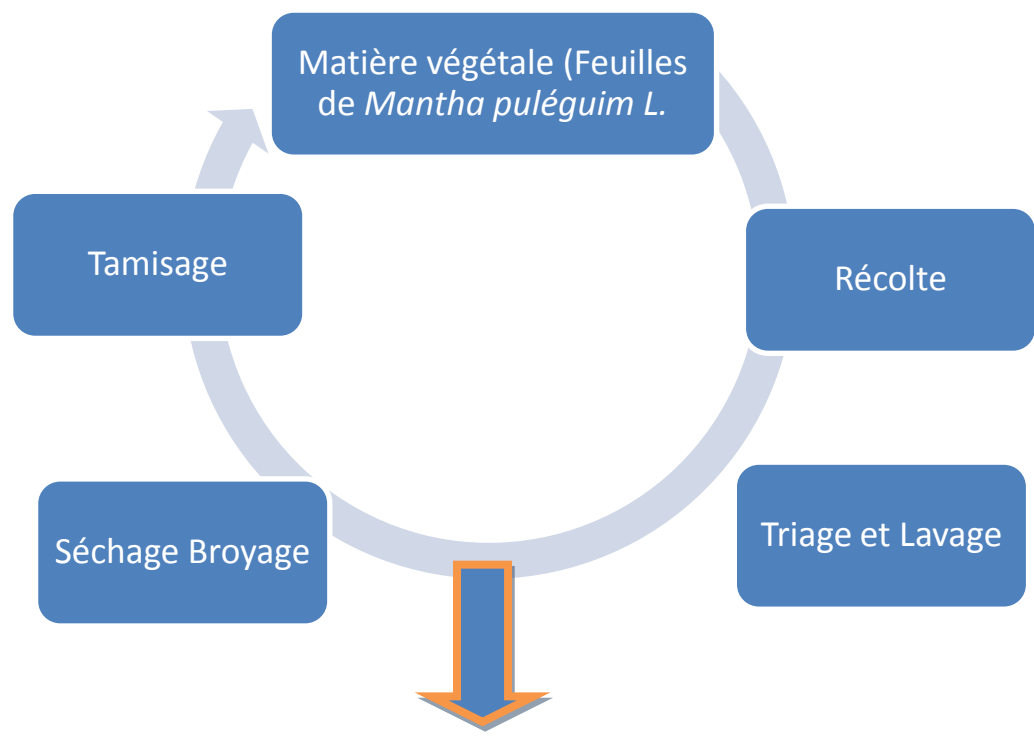


Figure 04: Carte de la situation géographique de la zone d'étude (Yakouren)

Matériels et méthodes



Wondershare PDFelement

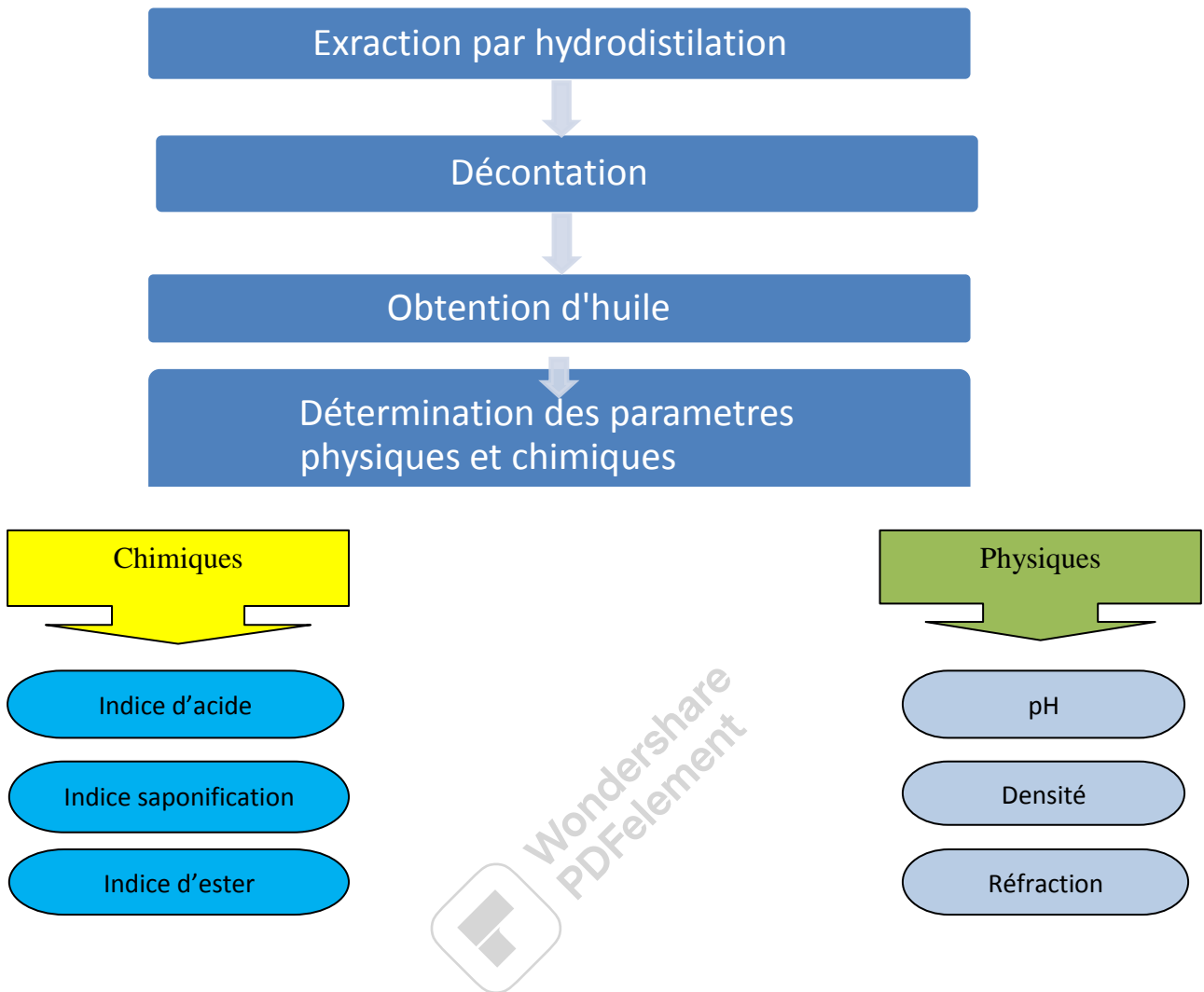


Figure 05 : Protocole expérimental

II.3. Préparation des plantes

Les feuilles de *Mentha pulegium L.* ont été lavées, triées et séchées à l'air libre à température ambiante (environ 23 à 27°C) pendant deux semaines, puis elles ont été écrasées dans un mortier les feuilles obtenues sont conservées dans des récipients en verre hermétique fermées à l'abri de la lumière de l'humidité (**Figure 5**).



Figure 06. Préparation de la plante**II.3.1. Dispositif expérimental****II.3.1.1. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation**

Elle consiste à immerger directement la matière végétale à traiter (intact ou broyée) dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite portée à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle est récupérée après décantation.

L'extraction des huiles essentielles de l'espèce *Mentha pulegium L.* a été effectuée par hydrodistillation (Figure 6).

a. Mode opératoire

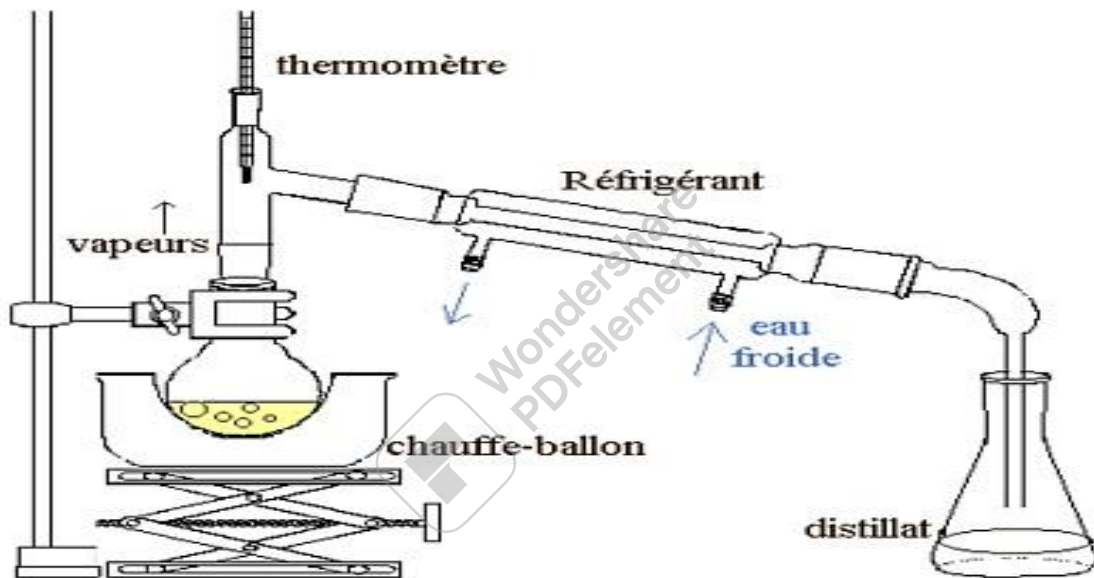
L'opération consiste à introduire 30 g de matériel végétal (feuilles), broyés dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. Les vapeurs chargées d'huiles essentielles passent à travers le tube 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 de biochimie 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.

b. Appareillage

Le dispositif utilisé pour l'extraction de l'huile essentielle de la menthe pouliot, est celui par hydrodistillation. Cet équipement fonctionne pour des quantités à l'échelle laboratoire (Figure5 et 6).

Matériels et méthodes**Figure 07** : Dispositif de l'hydrodistillation (photo originale)**Figure 08** : Dispositif de l'hydrodistillation**II.4. 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 :



Figure 09 : Quantités obtenues des huiles essentielles (photos originales)

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

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

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

M_s : Masse de la plante sèche en gramme.

II.5. Indices physiques

Les méthodes utilisées pour la détermination du pouvoir rotatoire, de l'indice de réfraction à 20 °C, la densité spécifique à 20°C sont conformes aux normes AFNOR (Grievy, 1995).

II.5.1. Densité relative

a. Définition

C'est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C, et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température (Lion, 1955).



Figure 10 :
densité relative (photo



Détermination de la
origine)

b. Principe

A l'aide d'une balance

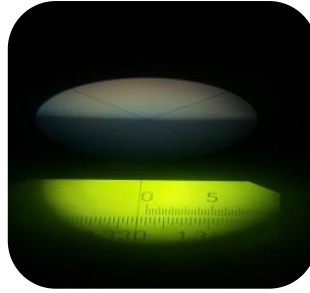
des pesées successives de volume égal d'huile et d'eau à la température de 20°C.

analytique, on effectue

c. Mode opératoire

Matériels et méthodes

La densité relative est donnée
1968).



par la formule si –dissous (**Wolff,**

- ▶ Peser le pycnomètre
- ▶ Déterminer la masse du (m1).

propre et sec vide (Pm0

pycnomètre rempli d'eau distillée

- ▶ Vider et sécher le pycnomètre.
- ▶ Déterminer la masse du pycnomètre contenant l'huile (m2).

d. Méthode de calcul

La densité relative est donnée par la formule si –dissous (**Wolff, 1968).**

La densité relative est calculée par la formule suivante :

$$D = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

m₀: Masse (g) de pycnomètre vide.

m₁ : Masse (g) de pycnomètre rempli d'eau.

m₂: Masse (g) de pycnomètre rempli d'huile d'olive.

II.5.2. Indice de réfraction

a. Définition

L'indice de réfraction d'une huile est le rapport du sinus de l'angle d'incidence et du sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée passant de l'air dans l'huile à température constante (**Lion, 1995).**

Cet indice varie en fonction des instaurations. Il croit avec le degré d'instauration des acides gras contenus dans les matières grasses (**Ollé, 2002).**

Cependant, il autorise le suivi des opérations d'hydrogénation et de fractionnement des corps gras (**Adrian et al, 1998).**

Figure 11 : Réfraction (photo originale)**b. Principe**

A l'aide d'un réfractomètre, on mesure directement l'angle de réfraction que l'on observe à la limite de réfraction totale, l'huile étant maintenue dans des conditions d'isotropisme et de transparence.

Figure 12 : Réfractomètre**c. Mode opératoire**

Quelques gouttes d'huile le prisme de réfractomètre, température (lu sur le réfractomètre), l'indice de réfraction est déterminé à l'aide des échelles.

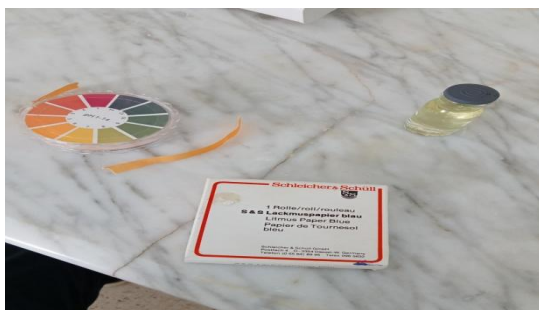


(photo originale)

essentielle sont déposées sur après avoir stabilisé la thermomètre fixé sur le

II.5.3. pH

La détermination du pH a été faite par bandelette et pH-mètre **Figure 13-14.**

**Figure 13 : la Bandelette pH (photo originale). Figure 14 : pH-mètre (photo originale)****II.6. Indice chimique**

Matériels et méthodes

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.

II.6.1. Indice d'acide

a. Définition

L'indice d'acide d'une huile végétale est le nombre de mg d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres (AGL) contenus dans 1 g de corps gras. Il mesure la quantité d'AGL présents dans un corps gras.

b. Principe

Il s'agit de dissoudre la matière grasse dans de l'éthanol chaud neutralisé, puis titrer les (AGL) présents au moyen d'une solution titrée de KOH en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

c. Mode opératoire

- On pèse 1g de corps gras et on l'introduit dans un erlenmeyer en verre.
- On Ajoute 5 ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénolphtaléine (PP) à 0,2%.
- On neutralise en ajoutant grâce avec une solution éthanoïque de KOH (0,1mole /l) jusqu'à obtention d'une couleur rose persistante.

d. Méthode de calcul

L'indice d'acide est calculé par la formule suivante (**Wolff, 1968**) :

$$IA = \frac{(56.1 * V * N)}{p} \text{ mg de KOH / g d'huile}$$

V : Volume en ml d'hydroxyde de potassium (0.1N) nécessaire au titrage.

N Normalité de solution de potassium (0.1N).

P : masse (g) de la prise d'essai.

56.11 : Masse molaire, exprimé en g /mol, d'hydroxyde de potassium.

II.6.2. Indice de saponification

a. Définition

C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de potassium (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides gras libres et saponifier les acides gras combinés (esters) présents dans un gramme de corps gras.

b. Principe

Matériels et méthodes

Il s'agit de traiter l'ester par de la potasse suffisamment concentrée et chaude, ce qui régénère suivant une réaction totale de l'alcool et le sel de potassium de l'acide en donnant naissance à l'ester.

c. Mode opératoire

- On pèse 1g de corps gras dans un ballon puis on ajoute 25ml de potasse alcoolique de
- Concentration 0,5 mol /l.
- On place le ballon dans un bain marie bouillant pendant 45 à 60 minutes.
- On ajoute 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 2%.
- On dose l'excès de potasse par d'acide chlorhydrique de concentration 0,5 mol /L tout
- En agitant constamment jusqu'au virage à l'incolore de la phénolphtaléine.
- On effectue dans les mêmes conditions un essai à blanc.

d. Méthode de calcul

L'indice de saponification est calculé la formule suivante (**Wolff, 1968**) :

$$IS = \frac{(V_0 - V)}{p} * N * 56.11$$

V₀ : Volume en ml de Hcl utilisé pour l'essai à blanc.

V : Volume en ml de Hcl utilisé pour l'échantillon à analyser.

P : Prise d'essai en grammes.

N : Normalité de la solution d'Hcl.

56.11 : Masse molaire exprimée (g/mol) d'hydroxyde de potassium.

II.6.3. Indice d'ester

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

$$IE = \text{indice de saponification} - \text{indice d'acide}$$

Matériels et méthodes

Figure
Détermination
de saponification
originale)



15 :
de l'indice
(photo

Résultats et discussion

III.1. Caractéristique physicochimique des huiles essentielles étudiées

Les propriétés physicochimiques de nos deux huiles permettent une meilleure caractérisation ; mais peuvent varier avec la situation géographique, les conditions climatiques, la nature du sol.

III.2. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les deux huiles essentielles analysées sont de nature liquide, de couleur jaunâtre avec une odeur très variable agréable (Tableau 03).

Tableau 03 : Caractéristiques organoleptiques des deux huiles essentielles

Plantes	Caractères organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
HE <i>Mentha pulegium</i> L <i>Yakoureen</i>	Liquide limpide	Jaunepale	Dégage une forte odeur menthée caractéristique
HE <i>Mentha pulegium</i> L <i>Tiaret</i>	Liquide limpide	Jaune	Dégage une forte odeur menthée aromatique caractéristique

Les deux huiles essentielles ont une odeur agréable, avec un caractère herbal rappelant les plantes fraîches.

Une étude analogue menée par **Hilan et al. (2006)**, a indiqué que l'huile essentielle originaire du littoral libanais est un liquide limpide, jaune pâle et fortement cinéolique par contre celle des montagnes, elle est liquide limpide, jaune foncé et fortement cinéolique.

Par ailleurs **Taleb-Toudert (2015)** signale dans des travaux que l'huile essentielle de la région de Kabylie est liquide, incolore, camphrée et piquante alors que notre substance est liquide, jaune foncé, camphrée et piquante. Les différences enregistrées peuvent être attribuée à l'origine géographique à la nature du sol ou au stade du cycle végétatif au moment de la récolte (**De Figueirido et al., 2008**).

III.3. Rendement

Les rendements en huiles essentielles varient selon l'espèce, la provenance et le stade de développement de la plante (**Hopkins, 1999**). L'extraction des huiles essentielles des menthes, par hydrodistillation, a montré des huiles jaunâtres, ambrées dont l'odeur est très intense caractéristique des menthes. Le rendement de l'huile est déterminé en pourcent de la

masse de la matière végétale initialement utilisée.

Cette étude a pour but de suivre l'évolution du rendement en huile essentielle, il est calculé par la formule suivante :

$$R\% = \left(\frac{M_{h.e}}{M_{m.v}} \right) \times 100$$

Où : $M_{h.e}$: Masse de l'huile essentielle (g), $M_{m.v}$, Masse de la matière végétale sèche (g) Les résultats sont sur le tableau suivant :

Tableau 04: Rendements des deux huiles essentielles

Huiles	Rendement %
Yakouren	0.15
Tiaret	0.18

Par rapport au rendement de *Mentha pulegium* L cité dans la bibliographie, nous constatons que notre résultat est nettement inférieur à celui obtenu par **Lahrech. (2006)** qui est égal à 2,32% 0,82%. 106 0F et supérieur à celui obtenu par **Belghazi et al., (2002)** qui est égale à 0,82%.

Montes et al., 1986 rapportent que *Mentha pulegium* de provenance de Chili a un rendement en huile essentielle de 2,3%, ce qui est plus important que la notre. Par ailleurs, **Sivropoulou et al., 1995** ont obtenu une teneur en huile essentielle de *Mentha pulegium* récoltée dans trois stations en Grèce, de l'ordre de 1,6 à 2% (v/m).

Par contre, Teixeira (**Duarte et al., 2005**), avancent que le rendement en huile essentielle de cette même espèce végétale d'origine Brésilienne est très faible, de l'ordre de 0,42% (m/m).

L'espèce *M. pulegium* de notre région a aussi montré un rendement plus faible à celui des études ultérieures menées dans différentes régions dans le monde. Ainsi, la menthe

Résultats et discussion

pouliot collectée en Iran avec un rendement de 0.65% (**Kamkar et al., 2010**), en Portugal avec 0.7% (**Mata et al., 2007**) et en Turquie, où le rendement obtenu varie de 0.3 à 1.2% (**Başer et al., 2012**). Néanmoins, le rendement obtenu est inférieur à celui de l'espèce collectée au Maroc avec 2.7% (**Ait-Ouazzou et al., 2012**).

Cette figure permet de positionner le rendement de nos huiles essentielles par rapport à ceux d'autres espèces de la même famille.

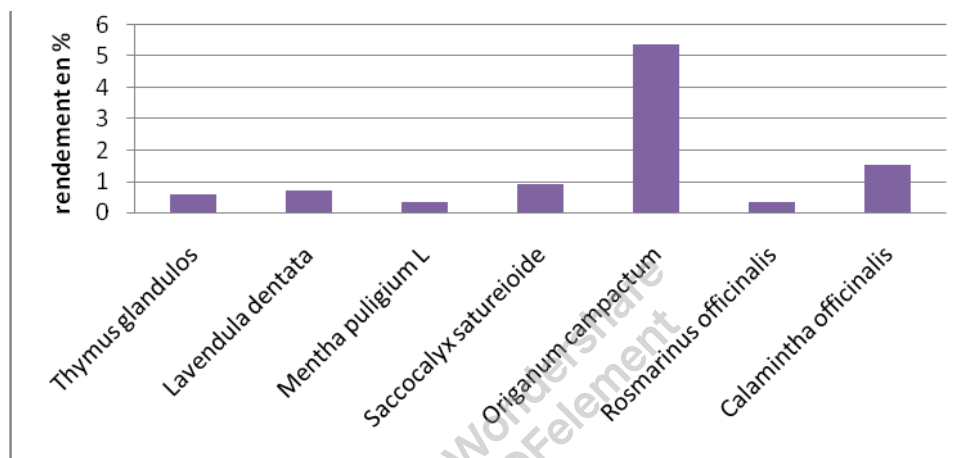


Figure 16. Comparaison du rendement en huiles essentielles de différente labiés

III.4. Caractères physiques

III.4.1. Densité relative

La mesure de la densité relative a été effectuée avec beaucoup de précaution, vu qu'on disposé d'une quantité limitée en huile essentielle.

La densité trouvée est de 0.933. La norme **AFNOR** préconise une densité comprise entre 0.906 pour les huiles de faible qualité 0.990 pour les huiles de très haute qualité. Les normes AFNOR fixe à 0.925 une densité en-dessous de laquelle l'huile est considérée de qualité. Avec une densité de 0.933, il y a lieu de suggérer que notre huile est de bonne qualité, cela peut être lié à l'endroit de la cueillette de la végétation de cette huile.

III.4.2. Mesure du pH

Le paramètre le plus important est la teneur en pH de ces huiles. Pour cela, nous avons procédé à un test à l'aide d'un pH mètre. Tout d'abord, il est nécessaire de savoir que la valeur lue sur le pH-mètre ne peut être retenue comme mesure que lors qu'elle est stabilisée.

Résultats et discussion

La durée de stabilisation est en général de quelques secondes et elle varie en fonction de la nature de la solution ou de l'encrassement de l'électrode.

Ensuite, le pH-mètre doit être étalonné avant chaque mesure ou série de mesures ce qui permet la graduation de l'appareil en étalon (qui est un modèle légal).

Les résultats de la mesure du pH des huiles sont regroupés sur le tableau

Tableau 05 : Tableau comparatif du pH.

Huiles	pH
Yakoureen	5
Tiaret	5.22

III.4.3. Indice de réfraction

L'indice de réfraction (RI) est utilisé :

- Pour identifier une HE.
- Comme critère de pureté des huiles essentielles.
- Pour vérifier la qualité de la distillation : une distillation trop rapide, à température trop élevée, trop lente abaisse l'indice de réfraction L'indice de réfraction des HE est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20 °C = 1.3356.

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

- Utiliser un réfractomètre permettant la lecture directe d'indices de réfraction situés entre 1.300 et 1.700, l'appareil est ajusté de manière à donner, à la température de 20 °C, une valeur de 1.333 pour l'eau distillée

Tableau 06 : Valeurs de l'indice de réfraction

Huiles	Indices de réfraction
Yakoureen	1.474
Tiaret	1.332

III.5. Indices chimiques

III.5.1. Indice d'acide, d'ester

La caractérisation physico-chimique des huiles étudiées est basée sur le calcul de l'indice d'acide, d'ester et la miscibilité à l'éthanol.

- La valeur de l'indice d'acide la plus faible est obtenue avec l'huile essentielle de Tiaret. La valeur de l'indice d'acide la plus élevée est obtenu avec l'huile essentielle de Yakoureen.

En ce qui concerne, 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**).

Tableau 07 : Valeurs d'indices d'acide et d'ester des deux huiles essentielles

Indices Huiles	Indices d'acides	Indice de saponification	Indice d'ester
Yakoureen	1.12	8.23	7.11
Tiaret	0.28	/	/

Selon la **pharmacopée française (2012)**, la valeur de l'indice d'acide doit être au maximum égale à 2. Dans notre cas l'indice d'acide est dans les normes pour les deux huiles essentielles.

La faible valeur de l'indice d'acide de l'huile essentielle de *Mentha puléguime L* est probablement due à la faible teneur en acides libres, qui ne sont pas altérées lors de l'extraction de l'huile et de sa conservation. Ceci s'explique par le phénomène d'hydrolyse des esters qui engendre ces acides avec le temps.

Résultats et discussion

Nos résultats rejoignent ceux de **Fellah et al. (2006)** sur l'huile essentielle de *Salvia officinalis*, collectée dans deux régions de Tunisie géographiquement différentes et ont montré des indices d'acides (IA) compris entre 0.49 et 1.41 et des indices d'ester (IE) compris entre 7.57 et 8.22.

L'acidité d'une huile essentielle est un critère de qualité. Un indice d'acide faible indique que les huiles essentielles sont stables. L'oxydation de l'huile provoque l'augmentation de l'indice d'acidité (**Clif et Harerimana, 2013**).

Les valeurs d'indices d'ester indiquent que les deux huiles contiennent d'importantes quantités d'acide libres, et il est admis que lorsque l'indice d'ester est élevé mieux est la qualité de l'huile (**Hilan et al., 2006**).



Conclusion



Conclusion

L'Algérie est un pays riche en végétation. Afin de valoriser notre patrimoine végétal et créer une banque de données nous nous sommes intéressées à l'extraction d'huile essentielle de *Mentha pulegium L.* par procédé d'hydrodistillation puis faire les différents contrôles physicochimiques

L'objectif de notre étude vise à l'extraction et la détermination des caractéristiques physico-chimiques de l'huile essentielle de *Mentha Pulegium L.*

Suite à nos études effectuées sur la plante *Mantha Pulegium L* récoltée à la wilaya de TIARET et de TIZI Ouzou exactement Gartoufa et Yakouren, on a constaté que la plante a un faible rendement en huiles essentiels.

L'étude des paramètres physico-chimiques a été déterminée par la densité relative qui a donné 0.933, la mesure du pH 5 pour l'huile de Yakouren et 5.22 pour celle de Tiaret. A propos de l'indice d'acide, on note une valeur de 1.12 pour Yakouren et 0.28 pour Tiaret. Tandis que, l'indice de réfraction est d'égale à 1.474 pour Yakouren et 1.332 pour Tiaret.

Malgré la faible teneur de *Mentha Pulegium L* en huiles essentiels par rapport à d'autres plantes, elle demeure toujours très utile et très utilisée de façon traditionnelle ou industrielle à cause de son intérêt médicale, pharmaceutique, culinaire ainsi que d'autres vertus.

Les huiles essentielles sont essentielles dans la vie quotidienne mais il faut rester très délicats quant à leur utilisation sous forme de tisane ou à l'échelle microlitre dans l'industrie à cause de leur toxicité qui est utilisée comme moyen de défense des plantes.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

1. **AFNOR (2000)**. Huiles essentielles Association Française de Normalisation, Paris, 465p
2. **AFNOR (Association Française de Normalisation), 1986, Recueil des normes françaises “huiles essentielles”**. AFNOR, Paris, 57p
3. **Association of official analytical chemistry (AOAC) (2000)**. Official methods for total dietary fiber: 985.29; 992.16 et 991.43. Gaithersburg, MD : AOAC International, 32.1.18
4. **Association of official analytical chemistry (AOAC) (2002)**. Ash of cheese. Official method 935.42, Chapter 33, 71 p.
5. **Azdia H, Tayeb Pacha N (2015)**. Contribution à l'étude de l'effet de céleri (*Apiumgraveolens L*) sur les bactéries responsables des infections urinaires. Mémoire de master, Université Abdelhamid Ibn Badise de Mostaganem.
6. **Boulland B (2001)**. Plantes médicinales du monde réalités et croyances. Paris : ESTEM, 636p.
7. **Bouyahya Z, Abrin J, Bakri Y, Dakka N (2018)**. Les huiles essentielles comme agents anticancéreux : actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*. 16(5): 254-267.
8. **Buckle J (2015)**. Clinical aromatherapy essential oils in healthcare. Churchill livingstone, an imprint of Elsevier Inc, 44-55 p.
9. **Chalchat JC, Gorunovic MS, Maksimovic ZA & Petrovic SD (2000)**. Essential oil of wild growing *Mentha pulegium L.* from Yugoslavia. *J. Essent. Oil Res.* 12: 598– 600.
10. **Eberhad T, Anton R , Lobstien A (2005)**. Plantes aromatique, Epices, aromates, condiments et huiles essentielles, paris, pp 176.177.178.179.180.310.311
11. **Guignard JL et Dupont F (2004)**. Botanique : Systématique moléculaire, 13^{ème} éd. Ed. Masson, Paris. 237 p.
12. **Guignard JLP. Potier (2000): Biochimie végétale, 2ème ED, ed. T. 2. : Dunod.**
13. **Hammiche V (2014)**. Traitement de la toux à travers la pharmacopée traditionnelle Kabyle. *Phytothérapie*. 13(6) : 358-372.
14. https://www.researchgate.net/figure/Apiaceae-Apium-graveolens-L-from-https-googl-images-7RWqQ4_fig4_326208453 .
15. **Huete A (2012)**. Les huiles essentielles pour tous les jours. Artemis, 224p.

Référence bibliographique

16. **JAY (1967)**. Action de la lumière sur la germination des akenes de Celeri (*Apiumgraveolens*) - 1967, p. 234- 240 - **Départ. /Région : Bulletin mensuel de la Société Linnéenne de Lyon, 1, N°36**
17. **Jourdan MH (1989)**. Ache des marais (*Apiumgraveolens L.*, Ombellifères), Thèse d'exercice de pharmacie, Université Grenoble Alpes, France
(:<https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/1351.html>)
18. **Lardry JM, Haderkorn V (2007)**. L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.* 17(61): 14-15.
19. **Quézel P, Santa S (1962)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Paris, CNRS, 1170 p.
20. **Talahagcha Kh et KASSA S (2008)**. Extraction et caractéristiques organoleptiques et chimiques de l'huile essentielle de *Menthapulegium*. (Menthe pouliot). D.E.S en biologie. <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/1351.html>
21. **Lahrech, N.** PFE. Université de Djelfa, 2005, p.111
22. **Belghazi,L.**; Lahlou,N.; Alaoui,I.M. ; Aboussaouira,T. ; Habti,N. ; Tantaoui,I.A. ; Talbi,M. ; Blaghen,M. ;Fellat-Zarrouck,K. extraction et analyse par chromatographie en phase gazeuse de l'huile essentielle de la Menthe pouliot test antifongique. *Biochimie et santé*, 2002,40-38
23. **Huete (2012)**. Les huiles essentielles pour tous les jours. Artemis, 224p
24. **Buronzio, J Schnebelen (2012)**. Huiles essentielles. Italie : FIRST, 160p.
25. **Guignard, F Dupont (2004)**. Botanique : Systématique moléculaire, 13ème éd. Ed. Masson, Paris, 237 p.
26. **QUEZEL P., et SENTA S., (1963)**. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertique méridionales. Ed, tome II: Paris. P: 1170
27. **désertique méridionales.** Ed, tome II: Paris. P: 1170
28. **M Grievev (1995)**. Modern herbal. ed electric newt.
29. **MA Hammou, (2013)**. Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie.* 11(4) : 206- 218.
30. **Fellah S, Ramdhane M, Abderraba(2006)**.. Extraction Et Etude Des Huiles Essentielles De La *Salvia Officinalis L.* Cueillie Dans Deux Régions Différentes De La Tunisie. *J Soc Alger Chim*, 2006 ; 193-202.
31. **M.Chavanne**, « Chimie organique Expérimentale », Edition Modulo Canada, 1986.

Référence bibliographique

32. **AFNOR** NFT75-113-2000, huiles essentielles'' échantillonnage et méthodes d'analyses monographiques relatives aux huiles essentielles (Tome 02).
33. **Hammich.** ; Systématique et morphologie botanique O.P.U.p : 190-1988
34. **Lion. P H .;** 1955. Travaux pratique de chimie organique. Ed. Dunod, Paris.
35. **Wolff .;** 1968. Manuel d'analyse des corps gras. Ed. Azoulay, Paris.
36. **Olle M. (2002).** Analyse des corps gras. Bases documents : technique d'analyse ; référence P3325 ; Ed. Techniques de l'ingénieur.
37. **Botineau M. 2010.** Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs. Tech. Et Doc (eds): 1021.
38. **Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Araujo MEM.2007.** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used asPortuguese food spices, Food Chemistry 103: 778-786.
39. **Ait-Ouazzou A., Lorán S., Arakrak A., Laglaoui A., Rota C., Herrera A., Pagán R. &ConchelloP., 2012.** Evaluation of the chemical composition and antimicrobial activity ofMentha pulegium, Juniperus phoenicea, and Cyperus longus essential oils from Morocco.Food Res. Int. 45: 313–319.
40. **Kaloustian J., Hadji-Minaglou F., 2012,** La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie, Springer-verlag France, Paris,p 28,29,37
41. **Hilan, C., Sfeir, R., Jawish, D., Aitour, S. 2006.** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. Lebanese Science Journal, 7(2):13-22.
42. **Hmamouchi M., 2001.-** Les plantes médicinales et aromatiques marocaines, 2e éd., Rabat, Maroc, 390 p.
43. **Kamkar A., A. Jebelli Javan, F. Asadi & M. Kamalinejad, 2010.-** The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. Food Chem. Toxicol., 48 (7), 1796-1800.
44. **Mahboubi M. & G. Haghi, 2008.-** Antimicrobial activityand chemical composition of Mentha pulegium L.essential oil. J. Ethnopharm., 119, 325-327.
45. **Hopkins, (1999).** Communiquer avec les personnes atteintes de démence : le point de vue de la personne handicapée. Journal of Gerontological Nursing, 25 (2), 6-13.
46. **Duarte, C. M., Holmer, M., and Marba, N.: Plant-microbe interac- `tions in seagrass meadows,** In: Interactions between macro- and microorganisms in marine sediments, edited by: Kristensen, E.,Kotska, J. E., Haese, R. H., AGU Coastal and Estuarine Studies,2005a.

Référence bibliographique

- 47. DERWICH E., BENZIANE Z., and BOUKIR A., (2010),** GC/MS analysis and antibacterial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* Grown in Morocco, *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(3), 191-198.
- 48. EL-GHORAB, A. H.** The chemical composition of the *Mentha pulegium* L. essential oil from Egypt and its antioxidant activity. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, Dehradun, v. 9, n. 2, p. 183-195, **2006**.
- 49. SIVROPOULOU, A.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M.** Antimicrobial activity of mint essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Davis, v. 43, n. 9, p. 2384-2388, **1995**.
- 50. Baba Aissa F** encyclopédie des plants utiles flore d'Algérie et du Maghreb librairie moderne (ed) rouiba (**1999**) pp235-236 /277-278-46 - 47 - 194 - 195 — 231
- 51. Montes M., Valenzuela L., Wilkomirsky T. et Niedmann C., 1986,** Détermination de la pulégone dans l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. originaire de Chili, *Ann. Pharmaceutiques français*, 44, p :133 - 136.
- 52. Baser, K.H.C., Kurkcuoglu, M., Demirci, B., Ozek, T., Tarımcılar, G., 2012.** Essential oils of *Mentha* species from Marmara region of Turkey. *J. Essent. Oil. Res.* 24, 265–272. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2012.676775>.
- 53. Pharmacopée française** 11^{ème} édition, **2012**.
- 54. HMIRI, S.; RAHOUTI, M.; HABIB, Z.; SATRANI, B.; GHANMI, M.; EL AJJOURI, M.** Evaluation of the antifungal potential of the essential oils of *Mentha Pulegium* and *Eucalyptus camaldulensis* in biocentral against fungi responsible for the deterioration of apples in storage. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liege*, Liege, v. 80, n. 1, p. 824-836, **2011**.

Annexes



Annexes

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

Tableau. 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
– Agitateur électrique	– Ballon en verre	– Chloroforme
– La hotte chimique	– Réfrigérant	– Acide acétique
– pH-mètre		– Phénolphtaléine
– Réfractomètre		– Thiosulfate de potassium
– Conductivimètre		– Iodure de potassium
– Bain marie		

