



**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET  
POPULAIRE**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**UNIVERSITE SAAD DAHLAB de BLIDA**

جامعة سعد دحلب البليدة

**Faculté des sciences de la nature et de la vie**

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

**Filière : Biotechnologie**

**Spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes**

**THEME**

**Etude de la variabilité morphologique de la menthe ; relation avec  
le rendement en huiles essentielles**

**Présenté par :**

Diboun Narimane 25-07-2021  
Bouterou Khaoula

**Date de soutenance :**

**Devant le jury :**

BENDALI. A

MAA

Univ, Blida 1

Présidente

GHANAI. R

MCB

Univ, Blida 1

Promotrice

BELGUENDOUZ. R

MCA

Univ, Blida 1

Examinatrice

**Année universitaire 2020/2021**

# Remerciements

Nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force, le courage et la volonté pour faire ce travail.

Ce mémoire a été réalisé dans le cadre de notre projet de fin de cycle pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie.

Nous exprimons nos remerciements à tous les membres du jury pour leur participation, prouvant ainsi l'intérêt qu'ils portent à ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à Madame **GHANAI, R** pour ses précieux conseils, ses commentaires et sa disponibilité lors de l'élaboration de cette étude.

Nous remercions **Mr Bendali**, Ad' avoir accepté de prendre le jury.  
Nous remercions Mm **Belguendouz, R** pour fait l'honneur d'examiner ce travail.

Nous souhaitons enfin remercier tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué au bon déroulement de ce travail et en particulier.

# Dédicace

Je dédie ce travail à :

**Mes chers parents :** que nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

**Mes frères :** KHALED, HECEN et SAID

**Mes sœurs :** AMINA, RAHMA

**Mes chers amis :** SALMA, RAHMA, KHAOULA, WASILA, MAROUA, FAIZA, et groupe Master 2spécialité Biotechnologie et valorisation des plantes.

**Mon cher amie KHAOULA:** Sans ton soutien et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

**NARIMANE**

# Dédicace

Je dédie ce travail à :

**Mes chers parents :** que nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments, pour leur patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, en témoignage de mon profond amour et respect pour leurs grands sacrifices.

**Mes frères :** YOUNES, OMAR, MOHAMED.

**Mes sœurs :** FAHIMA, AICHA, ANISSA, KHADIDJA,  
HADJIRA.

**Mes chers amis :** SALMA, RAHMA, KHAOULA, MAROUA, et  
groupe Master 2 spécialité Biotechnologie et valorisation des plantes.

**Mon cher amie NARIMANE:** Sans ton soutien et tes  
encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

**KHAOULA**

## Résumé

Cette étude porte sur une plante médicinale d'Algérie. Le but de ce travail est d'étudier la variabilité morphologique de *Mentha piperata* récoltées au niveau de deux localités différentes, Chlef et Béchar,

Les résultats obtenus ont montré que les caractères de la longueur de la plus haut feuilles et de la longueur du premier entre nœud sont plus variable (avec des coefficients de variation entre 98.38% et 38.88%, 95.18% et 37.79% respectivement) par rapport aux caractères de la longueur de tige et de la longueur de dernier entre nœud (avec des coefficients de variation variant entre 24.89% et 19,21%, 33.7% et 20,66% respectivement). Et l'évaluation de leurs rendements en huiles essentielles. L'activité antioxydante des huiles essentielles a été évaluée aussi selon le test de DPPH.

Extraction d'huiles essentielles par hydro-distillation de type Clevenger pour donner un rendement plus élevé obtenu à partir des individus récoltés de la localité de Béchar (1,2%) par rapport au rendement obtenu des individus récoltés de la localité de Chlef (1.00%).

Le rendement en huile essentielle est influencé par le climat et le sol et la méthode de culture.

Ainsi, l'activité antioxydante des huiles essentielles de menthe poivrée est évaluée.

L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode de DPPH a montré l'existence d'une activité antioxydante d'huile essentielle de la menthe, avec des valeurs d'IC<sub>50</sub> (137.788 µg/ml), pour les échantillons récoltés à Chlef, et (170.347 µg/mg) pour les échantillons récoltés à Béchar.

### Mots clés :

Variabilité morphologique, Menthe poivrée, Rendement, Huile essentielle, Activité antioxydante.

## Abstract

This study concerns a medicinal plant from Algeria. The aim of this work is to study the morphological variability of the plants collected at the level of two different localities, Chlef and Béchar,

the results obtained showed that the characters of the length of the highest leaves and of the length of the first between node are more variable (with coefficients of variation between 98.38% and 38.88%, 95.18% and 37.79% respectively) compared to the characters of the length of stem and the character of The length of last between node (with coefficients of variation varying between 24.89% and 19.21%, 33.7% and 20.66% respectively). And the evaluation of their essential oilyields. The antioxidant activity of essential oil was also evaluated according to the DPPH test.

Extraction of essential oils by hydro-distillation of the clevegeur type to give a high yield obtained from individuals collected from the locality of Béchar (1.2%) compared to the yield obtained from individuals collected from the locality of Chlef (1.00 %).

The yield of essential oil is influenced by the climate. It has been shown that morphological variability is linked to the yield of essential oil.

Thus, the antioxidant activity of the essential oils of peppermint is evaluated. The study of the antioxidant power by the DPPH method showed the existence of an antioxidant activity of essential oil of mint, with IC<sub>50</sub> values (137.788 µg / ml), for the samples collected at Chlef, and (170.347 µg / mg) for the samples collected at Bechar.

### Keywords :

Morphological variability, Peppermint, Yield, Essential oil, Antioxidant activity.

## ملخص

تتعلق هذه الدراسة بنبته طبية من الجزائر. الهدف من هذا العمل هو دراسة التباين المورفولوجي للنباتات المجموعة على مستوى منطقتين مختلفتين الشلف و بشار ، أظهرت النتائج المتحصل عليها أن صفات طول الأوراق الأعلى والطول الأول بين العقدة أكثر تبايناً (مع معاملات الاختلاف بين 98.38% و 38.88% و 95.18% و 37.79% على التوالي) مقارنة بأحرف طول الجذع والطول الأخير بين العقدة (مع معاملات الاختلاف تتراوح بين 24.89% و 19.21% و 33.7% و 20.66% على التوالي). وتقييم غلاتها من الزيوت العطرية.

تم أيضاً تقييم نشاط مضادات الأكسدة للزيوت الأساسية وفقاً لاختبار DPPH لقد تم استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير المائي من نوع clevengeur لإعطاء عائد أعلى يتم الحصول عليه من الأفراد المجموعة من منطقة بشار (1.2%) مقارنة مع المحصول من الأفراد المجموعة من منطقة الشلف (1.00%). يتأثر إنتاج الزيت العطري بالمناخ

. لقد ثبت أن التباين المورفولوجي مرتبط بعائد الزيت العطري. وبالتالي ، يتم تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية للنعناع. بـقيم IC<sub>50</sub> (137.788 ميكروغرام / مجم) للعينات التي تم جمعها في الشلف (170.347 ميكروغرام / مجم) بالنسبة للزيت الأساسي العينات التي جمعت في بشار

### الكلمات المفتاحية :

التباين المورفولوجي ، النعناع ، المحصول ، الزيت الأساسي ، نشاط مضادات الأكسدة.

# Sommaire

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
--------------------------	----------

## **Partie Bibliographique**

### **Chapitre I : Variabilité Morphologique**

2. Notion de l'espèce :.....	3
3. Notion de caractère :.....	3
4. Les principaux types de variation :.....	3
5. Factures de la diversification des populations :.....	4

### **Chapitre II :Présentation de l'espèce étudiée *Mentha piperata***

1. La famille des lamiacées :.....	5
2. <i>Mentha piperata</i> .....	5
2.1. Classification :.....	5
2.2 Origine et distribution :.....	6
2.3 Description morphologie de la menthe poivrée :.....	6
2.4 Propriétés et utilisation :.....	8
2.4.1. Utilisation thérapeutique et traditionnelle :.....	8
2.4.2. Utilisation commerciale :.....	8
2.4.3.Utilisation en parfumerie et cosmétique :.....	9
2.4.4. Utilisation culinaire :.....	9
2.4.5. Utilisation en agriculture :.....	9
3. Culture de la menthe poivrée :.....	9
3.1. La température :.....	9
3.2. Le sol :.....	10
3.3. L'altitude :.....	10
3.4. Fertilisation :.....	10
4. Composition chimique :.....	10

### **Chapitre III :Les Huiles essentielles**

1. Définition :.....	11
2. Intérêts et utilisation des huiles essentielles.....	11
2.1. Intérêt thérapeutique :.....	11
2.2. Intérêt des HE en parfumerie et en cosmétologie :.....	12
2.3. Intérêt agroalimentaire :.....	12
3. Répartition et localisation :.....	13
4. Composition chimique des huiles essentielles :.....	13
4.1. Terpènes et terpénoïdes :.....	13



4.2. Composés aromatiques :	15
4.3. Composés d'origine diverse :	16
5. Méthode d'extraction des huiles essentielles :	16
5.1. Hydrodistillation :	16
5.2. Entraînement à la vapeur d'eau :	16
5.3. Extraction au CO2 supercritique :	17
5.4. Expression à froids :	17
6. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles :	17
6.1. Facteurs extrinsèques :	17
6.2. Facteurs intrinsèques :	18
6.3. Facteurs d'ordre technologiques :	19
7. Toxicité des huiles essentielles :	20
8. Conservation des huiles essentielles :	20

## **Partie Expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et Méthodes**

1. Matériel :	21
1.1. Matériel végétal :	21
2. Méthodes d'étude :	22
2.1. Détermination de la teneur en eau :	22
2.2. Etude de la variabilité morphologique :	23
2.3. Analyses statistiques :	24
2.4. Evaluation des huiles essentielles :	25
2.5. Détermination de rendement :	27
2.6. Propriétés physico-chimiques :	27
2.7. Activité anti-oxydante des huiles essentielles :	28

### **Chapitre II : Résultats et discussions**

1. Détermination de la teneur en eau :	30
2. Analyses statistiques univariées :	30
2.1. Coefficients de variation :	30
2.2. Etude de la variabilité par les moyennes et les intervalles de confiance :	33
2.3. coefficients de corrélation :	35
3. Analyses en composante principale (ACP) :	36
4. Détermination du rendement des huiles essentielles :	37
5. Relation entre la variabilité et rendement :	37
6. Détermination des caractères physicochimiques :	38

6.1. Propriétés :.....	38
6.2. Indice de réfraction :.....	39
6.3. Densité relative :.....	39
6.4. Potentielle de hydrogéné : .....	39
7. Activité antioxydante: .....	40
7.1. Indice d'inhibition : .....	40
7.2. Détermination d'IC50 :.....	41
<b>Conclusion .....</b>	<b>42</b>

## Liste de figure :

<b>Figure 1 :</b> la morphologie de la menthe poivrée (Eberhard, 2005).....	7
<b>Figure 2 :</b> Exemples de quelques monoterpènes (frome heyen and harder ; 2000).....	14
<b>Figure 3 :</b> Exemples de quelques Sesquiterpènes (frome heyen and harder ; 2000).....	15
<b>Figure 4 :</b> Exemples de quelques Composés aromatiques.....	15
<b>Figure 5 :</b> Représentation des localisations d'échantillonnage.....	21
<b>Figure 6 :</b> les différents caractères morphologiques étudiés.....	23
<b>Figure 7 :</b> Séchage des échantillons de la plante de <i>Mentha piperita</i> .....	26
<b>Figure 8 :</b> Teneur en eau de la partie aérienne d' <i>Mentha Piperata</i> provenant des deux régions étudiées.....	30
<b>Figure 9 :</b> Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant de Chlef.....	31
<b>Figure 10 :</b> Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant de Béchar.....	32
<b>Figure 11:</b> Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant dans les deux stations.....	33
<b>Figure 12 :</b> Répartition graphique des intervalles de confiance des caractères morphologiques étudiés des plantes provenant au niveau de la localité de Chlef et Béchar.....	34
<b>Figure 13 :</b> Répartition des individus et caractères morphologiques sur le plan 1-2 de l'ACP.....	36
<b>Figure 14 :</b> Le rendement en HE d' <i>Mentha Piperata</i> provenant des deux régions étudiées.....	37
<b>Figure 15 :</b> Pourcentage d'inhibition du radical libre par les huiles essentielles et la vitamine C.....	40
<b>Figure 16 :</b> Valeurs des IC50 des différents extraits et vitamine C.....	41

## Liste de tableur :

<b>Tableau 1 :</b> Classification botanique de <i>Menthe piperata</i> selon APG III.....	5
<b>Tableur 2 :</b> situation géographique des localités de récolte.....	22
<b>Tableur3 :</b> les défirent caractères morphologiques étudiés.....	24
<b>Tableau4:</b> Coefficients des corrélations des différents caractères morphologiques.....	35
<b>Tableau 5:</b> Les caractères des huiles essentielles de l'espèce étudiée.....	38
<b>Tableau 6:</b> indice de réfraction des huiles essentielles étudiées.....	39
<b>Tableau 7:</b> densité relative à 20°C.....	39

## Liste des abréviations :

**ACP** : Analyse en composante principale.

**C.V** : Coefficient de variation.

**MS** : Matière végétale sèche.

**MF** : Matière Fraiche.

**HE** : Huile essentielle.

**MHE** : Quantité d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en grammes

**T.E** : Teneur en eau.

**R(%)** : Rendement de l'huile essentielle pourcentage.

**IR** : Indice de réfraction.

**D20** : Densité relative à 20°C.

**DPPH** : 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**I%** : Indice d'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage.

**IC50** : Concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration de DPPH initiale de 50%.

**Vit C** : vitamine C.

**AFNOR** : Association Française de Normalisation.

## Introduction

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques. Cela grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. (Naghbi et al, 2005 ; Babulka, 2007).

L'Algérie porte un patrimoine végétal très riche. Parmi ces plantes aromatiques et médicinales, La menthe « *Mentha piperata* » qui appartient à la famille des Lamiacées. Cette plante est riche en : menthol, le menthone, limonène...etc. Et utilisé comme antispasmodique, antiseptique et légèrement aphrodisiaque, digestif, bactéricide puissant, parasiticide cholagogue (Hammami et Abdesselem ; 2005).

De nos jours, les huiles essentielles suscitent de plus en plus l'intérêt des chimistes, biologiste, et médecin en raison de leurs utilisations dans le traitement de certaines maladies infectieuses pour lesquelles les antibiotiques de synthèse deviennent de moins en moins actifs ou dans la préservation des aliments contre l'oxydation comme alternatives aux produits chimiques de synthèse (Farnsworth et al. 2007).

Les huiles essentielles représentent un groupe très intéressant de ces métabolites qui sont dotés de nombreuses propriétés thérapeutiques et sont source d'une incroyable diversité et richesse chimique (Khenaka, 2001).

Cependant le rendement des huiles essentielles reste toujours faible quelque soit le mode de production, la teneur et la composition chimique d'une HE varient en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèque et d'ordre technologique. (El Abed et Kambouche ; 2003).

Les facteurs intrinsèques sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (génétique).

L'évaluation des rendements des huiles essentielles a fait l'objet de plusieurs études, l'intérêt à part sur l'influence de procédé de séchage sur le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle, les facteurs d'environnements, et les facteurs géographiques. (Selami et al ;2001). D'autres auteurs ont essayé de déterminer les conditions optimales de procédés d'extraction permettant d'aboutir aux meilleurs rendements. (Sahraoui et al, 2016).

Dans ce contexte, et dans le but de comprendre l'influence des facteurs (intrinsèques sur le rendement des huiles essentielles, nous nous sommes intéressées à étudier la variabilité morphologique des échantillons de la menthe provenant de deux régions différents d'Algérie.

Nos objectifs sont les suivants :

- Etudier la variabilité morphologique des individus d'*Mentha piperata* récoltés dans deux localités différentes, selon des mesures biométriques de caractères choisis et des analyses statistiques.
- Extraction des huiles essentielles et évaluation du rendement.
- Etudier l'activité antioxydant des huiles essentielles de menthe poivrée.

## **Partie Bibliographique**



**Chapitre I :**  
**Variabilité Morphologique**

## **1. Notions de variabilité**

Depuis très longtemps, l'observation a montré aux botanistes que les plantes appartenant à une même espèce ne sont pas exactement semblables les unes aux autres. Reconnaissait déjà l'existence d'une telle variabilité mais l'interprétait, uniquement ou presque, en fonction de l'action du milieu.

C'est donc à une époque récente, depuis la découverte des lois de Mendel vers 1900, que l'étude de la variation intra spécifique s'est trouvée pleinement justifiée pour finalement devenir la base des analyses taxonomiques et le support de toutes les considérations relatives au phénomène de l'évolution (Bidault, 1971).

## **2. Notion de l'espèce**

L'espèce est l'unité de base du système de la hiérarchie linnéenne de la taxonomie (Lucotte, 1978).

Les taxonomistes sont en permanence confrontés à des difficultés d'identification et de dénomination des espèces ; ils doivent en effet décider si un spécimen quelconque appartient à une population d'une espèce donnée ou d'une autre espèce (Lucotte, 1978, Lodé, 1997).

## **3. Notion de caractère**

L'étude de la variation des végétaux s'adresse d'abord à des caractères taxonomiques. Selon Bidault (1971), un caractère taxonomique est l'ensemble ou une partie des traits ou propriétés d'un végétal susceptibles d'être soumis à une mesure ou de recevoir un qualificatif permettant des comparaisons avec les mêmes traits ou propriétés d'un végétal.

La mesure ou la qualification d'un caractère ainsi défini permettant d'en indiquer les états ou les valeurs.

La disparité des caractères peut être de plusieurs sortes, qui sont interprétées comme des variables pouvant résulter d'observations morphologiques, anatomiques, histologiques, cytologiques et biochimiques (Stebbins, 1950).

## **4. Les principaux types de variation**

Quelle que soit la nature des caractères envisagés, on peut distinguer trois types de variations:

**4.1. Une variation individuelle :** affectant les diverses parties d'un individu à un moment donné, ou les mêmes parties à des moments différents.

**4.2. Une variation à l'intérieur des populations :** qui distingue les individus des populations.

**4.3. Une variation à l'intérieur d'une unité systématique :** qui distingue les populations d'une unité taxonomiques (Bidault, 1971).

## **5. Factures de la diversification des populations**

Les variations phénotypiques constatées au sein des populations peuvent avoir comme origine, une influence du milieu, de la structure génétique et souvent de leur interaction.

### **5.1. Variation d'origine environnementale**

Ce sont évidemment les facteurs du milieu qui sont directement à l'origine de la variation phénotypique, comme les conditions climatiques, édaphiques et biotiques.

Cette variabilité phénotypique, qui est susceptible de se manifester sur des caractères très différents, peut avoir des conséquences taxonomiques importantes dont il est nécessaire de tenir le plus grand compte (Bidault, 1971).

### **5.2. Variation d'origine génotypique**

Les variations génotypiques qui sont à l'origine même de l'évolution dépendent de deux facteurs, facteurs interne (mutation de, recombinaisons et ségrégations, hybridation) et les facteurs, externes (sélection naturelle).

Selon les circonstances (structure génétique, taille et degré d'isolement des populations constitutives), la diversification pourra se faire graduellement sous l'influence prépondérante de la sélection naturelle (spéciation progressive), ou au contraire d'une façon brusque par l'intermédiaire de mutations chromosomique importantes ou d'hybridations (spéciation abrupte) (Bidault, 1971).

**Chapitre II :**  
**Présentation de l'espèce étudiée**  
*Mentha piperata*

## 1. La famille des lamiacées

La famille des lamiacées comprend plus de 200 genres et quelques 6000 espèces différentes réparties sur tout le globe. La plupart des plantes appartenant à cette famille sont des herbacées ou sous-arbrisseaux caractérisés par la forme de leur fleur bilabiée, de leur tige quadrangulaire, de leurs feuilles opposées mais surtout pour leur production d'huile essentielle. Les lamiacées possèdent en effet des poils glanduleux renfermant une huile essentielle odorante caractéristique selon l'espèce. La cueillette ou la production de ces végétaux est donc souvent liée à cette huile essentielle aromatique dont les propriétés antibiotiques ou antiseptiques peuvent être très puissantes. Les lavandes, les menthes, les sauges, les thym, les scutellaires, les basilics, les patchouli appartiennent à la famille des lamiacées. La liste est longue et les usages très répandus, que ce soit dans les traditions populaires ou dans les pharmacopées légiférées. De nos jours, les industries de la pharmacie, de la cosmétique, de la parfumerie et de l'alimentaire sont très consommatrices de ces huiles essentielles (Erceau et Pasquier 2016).

## 2. *Mentha piperata*

### 2.1. Classification

La systématique de la plante est donnée dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Classification botanique de *Mentha piperata* selon APG III.

Embranchement	Spermaphytes
Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Astéridées
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées (labiacées)
Genre	<i>Mentha</i>
Espèce	<i>x piperata</i>

Les différents noms de menthe poivrée donnent le monde

- En arabe : Nana.
- Français : Menthe anglaise.
- Anglais : Brandy mint, Peppermint.
- Italien : Mentha piperita.
- Allemand : Peppermint.
- Chinois : Po Ho.

## 2.2. Origine et distribution

Selon Iserin (2001) les feuilles séchées de la menthe poivrée ont été trouvées dans la pyramide des Égyptiennes datant du premier millénaire av .J.C .Le nom menthavier du grec « Minthe » et du latin « menta » .Piperita signifie poivrée. Les Grecs et les Hébreux sont pour fumaient tandis que les romains en mettaient dans leur vin et sauces. Leurs femmes mâchaient une pâte renfermant de la menthe et du miel pour masquer l'odeur de vin.

La menthe a été reconnue et décrite en 1696. aux environs de Londres à Mitchum, où cet hybride est apparu d' où son deuxième nom : menthe anglaise. Elle est originaire de l'Angleterre, cultivée dans nos régions de l'herboristerie et de la distillerie cependant on la rencontre rarement à l'état spontané (Hammamet Abdesslem ; 2005).

La culture de la menthe poivrée s'est répandue dans un certain nombre de pays d'une part aux USA à partir de 1825, d'autre part, et progressivement dès la fin du 19<sup>ème</sup> Siècle, et le début du 20<sup>ème</sup> siècle, dans toute l'Europe occidentale et Méridionale. (Fournier; 1948).

La menthe poivrée est inscrite à la 10<sup>ème</sup> édition de la pharmacopée française, Elle est un hybride de la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la *Mentha spicata*, en Algérie, elle est seulement cultivée (Bruneton, 1999).

## 2.3. Description morphologie

La menthe poivrée est une plante indigène cultivée de la famille des labiées, herbacée à végétation vigoureuse, son odeur spéciale et une saveur aromatique, brûlante mais laisse une sensation de fraîcheur (Hammami et Abdesslem ; 2005).

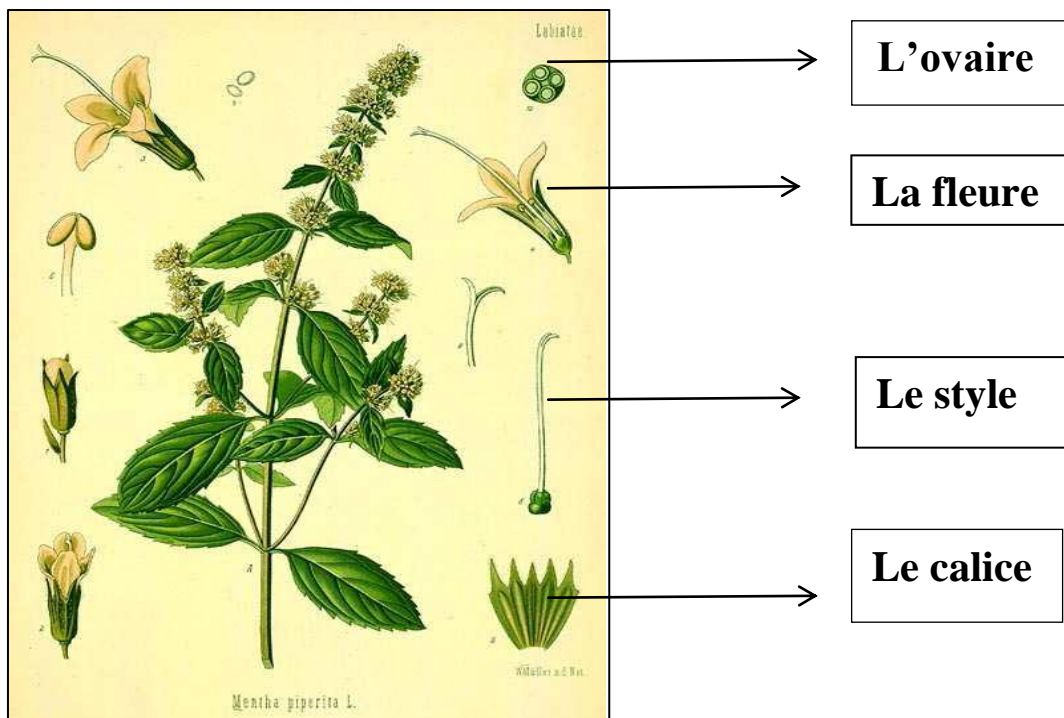
C'est une herbe annuelle, semblant pérenne en se reproduisant à partir de

## Chapitre II Présentation de l'espèce d'étudiée *Mentha piperata*

Nombreux stolons, traçants, rampant, chevelu, aériens ou souterrains, à racine adventives (Baba Aissa ; 1999). La menthe poivrée est caractérisée par des tiges quadrangulaires le plus souvent violacées (Brouneton ; 1999). Un peu velue de 50 à 80 cm de haut, dressée ramifiée, se divise en rameaux opposés (Hammami et Abdesslem; 2005).

Les feuilles sont ovales ou lancéolées et crénelées en scie, opposées par paires, longues de 4 à 8 cm, courtement pétiolées, de couleur vert pale souvent teintées de rouges pas de stipules (figure 1) (Fouzi; 1994).

Les inflorescences de fleurs faiblement bilabiées de couleur pourpre sont groupées en épis très serrés (Brouneton; 1999). Le calice présente cinq dents la corolle pourpre violacées (parfois blanches) est terminée par quatre lobes, les quatre étamines sont incluses dans la corolle, les graines sont rares et stériles



**Figure 1** : la morphologie de la menthe poivrée (Eberhard, 2005).

## **2.4. Propriétés et utilisation**

La menthe poivrée est répandue dans le monde pour la production de l'essence qui contient le menthone et du menthol qui sont des aromatiques rafraichissants.

La menthe est stimulante générale ; elle est aussi antispasmodique, antiseptique et légèrement aphrodisiaque, digestif, bactéricide puissant, parasiticide cholagogue (facilité l'évacuation de bile vers l'intestin) (Hammami et Abdesselem ; 2005).

### **2.4.1. Utilisation thérapeutique et traditionnelle**

La menthe poivrée est excellente pour le système digestif, elle stimule la sécrétion des sucs digestifs et de la bile, et décontracte les muscles intestinaux .Elle atténue nausées, ballonnements et colites. Son action antispasmodique sur le colon est efficace en cas de diarrhée, comme en cas de constipation (Youcef; 1990, Iserin;2001).

Elle est utilisé pour soulager les maux de tête, traite les parasites de la peau (démangeaisons cutanées). Elle traite l'inflammation des voies respiratoires et de la muqueuse buccale, soulage les symptômes, du rhume et de la toux, les douleurs Rhumatismales musculaires, et névralgiques (Hammami et Abdesselem ; 2005).

Selon Iserin (2001), l'huile essentielle de la menthe peut être utilisée diluée en inhalation ou en massage légers sur la poitrine, en cas d'identifications bronchique. La plante entière est efficace en cas de gastro entérites. La menthe poivrée ne doit pas être administrée aux jeunes enfants, ennuage médicinal. Elle est excitante et à la longue irritante (Baba Aissa; 1999).

### **2.4.2. Utilisation commerciale**

La menthe poivrée est importante en utilisation industrielle comme aromatisant aussi bien pour les produits médicamenteux que pour ceux de la parapharmacie et de l'hygiène. L'industrie agro-alimentaire est le principal consommateur : liquoristerie (Liqueur, sodas, sirops à diluer) confiserie (bonbon et sucre cuits, pâtes à mâcher chocolat) l'industrie de tabacs et la parfumerie. 90% de la production mondiale d'essence de menthe poivrée est produite par les USA (Hammami et Abdesselem ; 2005).

### **2.4.3. Utilisation en parfumerie et cosmétique :**

Depuis l'antiquité, on utilise la menthe pour parfumer le corps et les temples. En inde, elle est utilisée comme un symbole des marchands de parfum. Actuellement, elle est utilisée



## Chapitre II Présentation de l'espèce d'étudiée *Mentha piperata*

dans la fabrication des dentifrices, de déodorants, des parfums, des eaux de parfums et de savons de toilette (Benayed, 2008).

### **2.4.4. Utilisation culinaire**

Les menthes sont utilisées dans les boissons : alcool, liqueurs, vinaigres, aromatisants le vin, parfument le thé en Afrique et au moyen orient. Comme elle peut être utilisée dans les condimentaires : grillades, salades, fromages frais, pâtes et accompagnement des viandes et des légumes, dessert : accompagnement des fruits, des glaces, aromatisant les confitures, sauce : sauce à la menthe en Angleterre et sauces épicées en Inde (Brada ; 2007).

### **2.4.5. Utilisation en agriculture**

Les menthes sont utilisées en agriculture comme agent de protection contre les insectes des denrées stockée, selon Benayed (2008), les huiles essentielles de menthe ont une activité insecticide

## **3. Culture de la menthe poivrée**

La culture de la menthe a besoin de plusieurs exigences pour la germination et la croissance, ces exigences sont les suivants :

### **3.1. La température**

La sensibilité de la menthe à la température est accentuée par le caractère vivace de la plante .La plante entre en repos végétative pendant l'hiver, il est possible qu'elle ait besoin de froid. La température maximale de l'ordre de 30° C donnent une croissance optimale (Mader; 2001).

Le thermopériodisme qu'il soit saisonnier ou journalier est l'un des moteurs du développement des végétaux, des températures trop faibles peuvent abaisser le niveau de photosynthèse (Hnatyszyn et Guais ; 1988).

### **3.2. Le sol**

Le système racinaire de la menthe est peu profond. Il exige un sol peu compacte, perméable et légèrement argileux .sa culture réussit particulièrement bien dans le sol bien drainés à pH allant de 5,5à 8 (Patrick ; 1985).

### **3.3. L'altitude**

La menthe poivrée peut être cultivée en climat montagnard, tempéré, humide Jusqu'à 900-1000m d'altitude et en climat montagnard méditerranéen, à condition d'arroser pendant la sécheresse d'été (Gilly ; 1989).

### **3.4. Fertilisation**

Le sol doit être riche en matière organique, et on doit faire des apports enengrais pour favoriser un bon redressement .et obtenir un bon rendement d'uneculture de la menthe poivrée, il faut y avoir l'importance des trois grands élémentsnutritifs : nitrogène, phosphore et potassium (Mader; 2001).

## **4. Composition chimique**

La réalisation des extraits avec différentes parties de la menthe poivrée ont montré la diversité et la nichasse en plusieurs constituants tel que flavonoïdes (lutéolme, menthoside), tocophérols, azulènes, l'acide rosmarinique, des terpènes, des caroténoïdes, des tanins et huile essentielle (Iserin, 2001 ; Charles, 2013).

Les huiles essentielles représentent de 1 à 3 % de la masse de la matière sèche de la partie aérienne de la plante, Leurs principaux constituants sont le menthol (29-50%), le menthone (16-25%), de l'acétate de menthyle (pas plus de 5%), l'isomenthone (de 10 à 15%), menthofurane, et pipénitone. Elle contient également de 1 à 5% limonène, de 3,5-14% de 1.8 cinéole(Bruneton, 1999 ; Charles, 2013).

**Chapitre III :**  
**Les Huiles essentielles**

## 1. Définition

Les huiles essentielles (HE) sont des substances odorantes et volatiles. Contrairement à ce que ce nom indique, il n'y a aucun corps gras dans les huiles essentielles. Elles proviennent d'une sécrétion naturelle élaborée par certains végétaux pour se protéger des insectes et des maladies, mais aussi pour éliminer les substances issues de leur métabolisme.

Elles sont obtenues 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. (Georges Sens-Olive, 1979).

## 2. Intérêts et utilisation des huiles essentielles

### 2.1. Intérêt thérapeutique

Les huiles essentielles présentent différentes propriétés pharmacologiques sur nombreuses cibles de l'organisme. Elles sont de plus en plus utilisées en pharmacie pures ou au sein de spécialités que ce soit à des fins d'aromatation (excipient) ou comme principe actif. Certaines huiles sont insectifuges ou insecticides comme celles possédant des fonctions aldéhydes par exemple : le citronellal contenu dans l'Eucalyptus citronne ou citronnelle éloignent les poux, mouches (Muther, 2015).

Les huiles essentielles possédant des aldéhydes qui ont des propriétés actives contre l'inflammation par voie interne comme l'HE du Gingembre. (Mayer, 2012).

Les aldéhydes mono terpénique de type citrals contenu par exemple dans l'huile essentielle de Mélisse ou celle de verveine citronnée favorisent la détente et le sommeil (Vel'h 2015). Les HE les plus connus pour leur action antalgique sont celles du Gingembre, Giroflier, Eucalyptus citronné, Lavande vraie (Mayer, 2012).

Les HE riches en oxydes (1, 8 cineole) comme l'HE d'*Eucalyptus globules* agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique

Les HE possédants des cétones (comme la verbenone de l'HE du Romarin) ont une action mucolytique en dissolvant les sécrétions accumulées au niveau de la muqueuse (Mayer, 2012).

Les huiles essentielles cicatrisantes sont celles de Ciste, de Lavande vraie, d'Immortelle de Myrrhe. On utilise souvent un mélange de plusieurs HE cicatrisante avec une HE végétale tel que l'huile d'amande douce (Mayer, 2012).

### Chapitre III les huiles essentielles

Certaines HE, comme le cumin ou encore le fenouil, attisent l'appétit et améliorent la digestion. D'autre comme la menthe ou le carvi stimulent les voies biliaires du fait de leurs actions cholagogues et cholérétiques (Muther, 2015).

Les HE de lavande officinale et d'eucalyptus citronne apaisent avec succès les démangeaisons dues aux piqures d'insectes, d'ortie, de méduse...l'action lipolytique du citron et du lemon-grass permet de lutter contre la cellulite par dissolution des graisses (Muther, 2015).

Certaines HE ont la capacité de réguler l'ensemble des glandes endocriniennes de l'organisme : l'HE de myrrhe atténue une hyperthyroïdie en freinant l'activité de la thyroïde (Muther, 2015).

#### **2.2. Intérêt des HE en parfumerie et en cosmétologie**

Les huiles essentielles à l'état diluant, sont utilisées dans les parfums et les eaux de toilettes. L'industrie de parfumerie consomme d'importants tonnages d'essences (60%) en particulier celles de Rose, de Jasmin, de violettes, de verveine... (Kaloustian et Hadji-Minaglou 2011).

Les huiles essentielles sont utilisées depuis longtemps en cosmétologie. En raison de leurs propriétés diverses, elles prennent soin de la peau et de ses désordres (acné, rides..), les cheveux (pellicules, cheveux cassants, ternes, sec..), la silhouette (vergetures, cellulite..).

Les principes actifs des HE franchissent très rapidement la barrière cutanée et sont absorbées par la peau pour agir en douceur (Evidence box).

#### **2.3. Intérêt agroalimentaire**

En vertu de leurs propriétés antiseptiques et aromatisants, les HE sont employées quotidiennement dans les préparations culinaires (ail, thym, laurier..). Elles sont également très prisées en liquoristeries (boissons anisés, kummel..) et en confiserie (bonbons, chocolat..). Leur pouvoir antioxydant leur permet de conserver les aliments en évitant les moisissures, conservation du smenpar exemple par le thym et le romarin (Ouis, 2015).

### 3. Répartition et localisation

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le règne végétal et surtout chez Les végétaux supérieurs, il y a 17500 espèces aromatiques. (Khia et al ; 2014). Les familles botaniques capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont réparties dans un nombre limité des familles, Exemple : Myrtacée (Girofle), Lauraceae (laurier), Rutaceae (citron), Lamiaceae (Menthe).

Ils sont stockés sous forme des microgouttelettes dans les glandes des plantes. , On les trouve dans les fleurs, les fruits, les feuilles, les racines, les graines et les écorces de nombreux végétaux. Ces huiles sont aussi stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs comme dans la menthe, canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif (Ibene ; 2012).

### 4. Composition chimique des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés chimiques dissous l'un dans l'autre formant des solutions homogènes. Ces constituants appartiennent quasiexclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phenylpropane d'autre part (Dorosso Sonate, 2002).

#### 4.1. Terpènes et terpénoïdes

Dans le règne végétal, les terpénoïdes sont classés dans la catégorie des métabolites secondaires. Leur classification est basée sur le nombre de répétition de l'unité de base isoprène ; Hémiterpène (C5), monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20). Ils représentent le groupe le plus important (Brunton ; 1999).

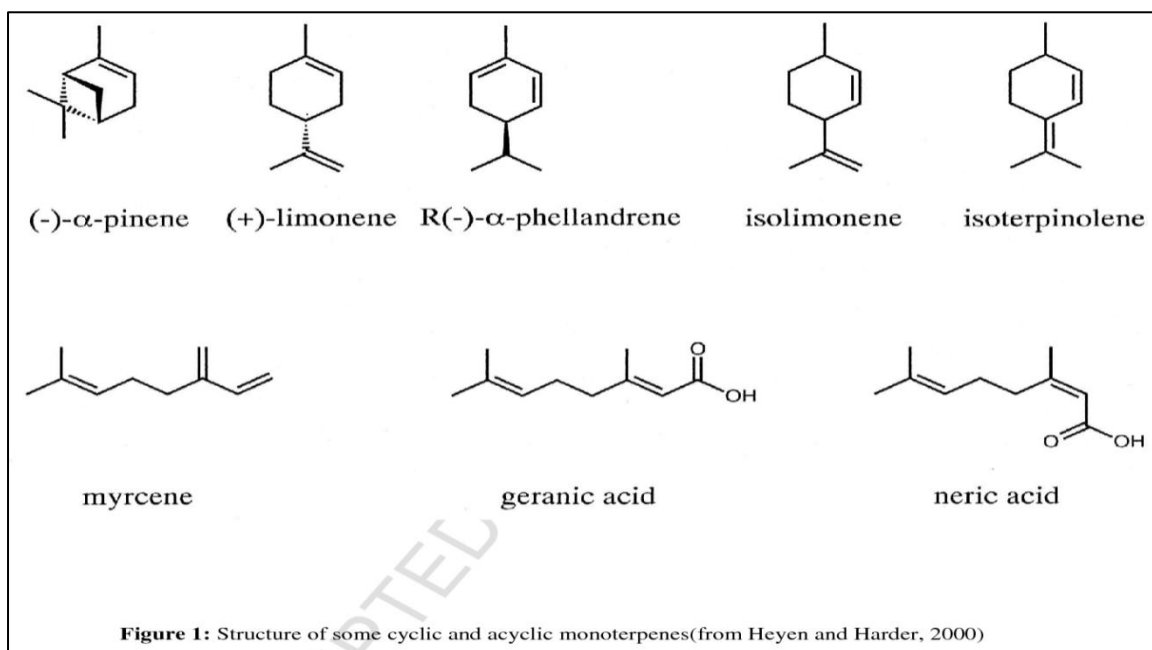
**A. Monoterpènes :** Plus de 900 monoterpènes (figure 2) connus se trouvent principalement dans 3 catégories structurales : les monoterpènes acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90 % d'HE.

Dans cette catégorie de composés, il existe de nombreuses molécules fonctionnalisées, à savoir, par exemple:

- Alcools: acyclique (géraniol, citronellol), monocycliques (menthol), bicycliques (bornéol).

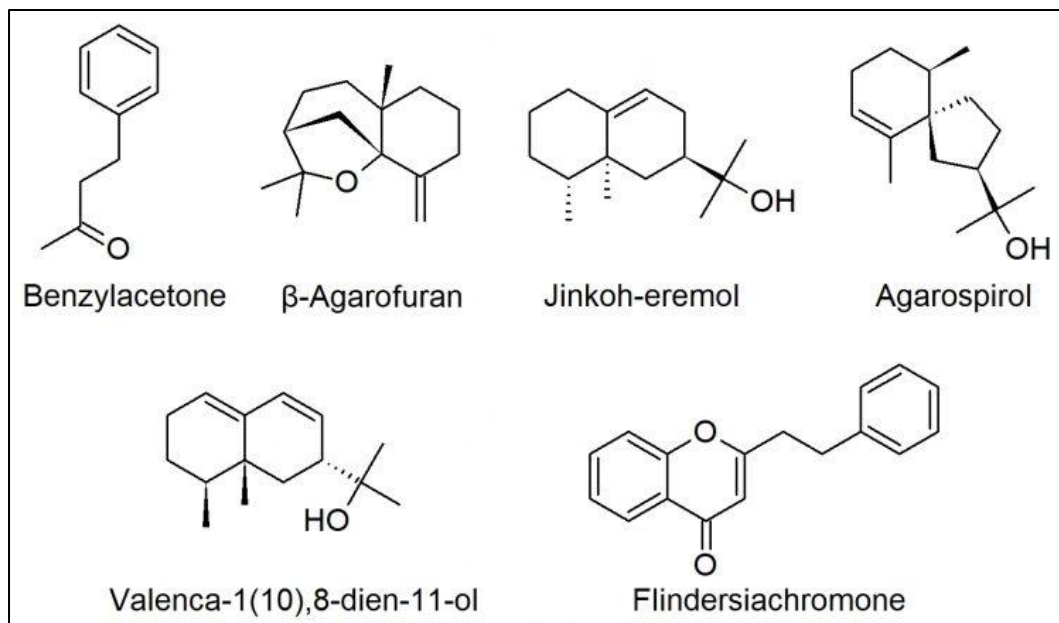
### Chapitre III les huiles essentielles

- Aldéhydes : le plus souvent acycliques (géralial, néral, citronellal).
- Cétones : acycliques (tagétone), monocyclique (menthone, isomenthone, carvone, pulégone), bicycliques (camphre, fenchone).
- Esters : acycliques (acétate ou propionate de linalyle, acétate de citronellyle), monocycliques (acétate de menthyle), bicycliques (acétate d'isobomyle)
- Ethers : 1,8-cinéole eucalyptol) mais aussi les éthers cycliques tétrahydrofuraniques ou di- et tétrahydropyraniques qui pour certains jouent un rôle majeur dans l'arôme des fruits (oxyde de linalol ou de rose).
- Peroxydes : ascaridole.
- Phénols : thymol, carvacrol (Brunton ;1999).



**Figure 2 :** Exemples de quelques monoterpènes (from heyen and harder ; 2000)

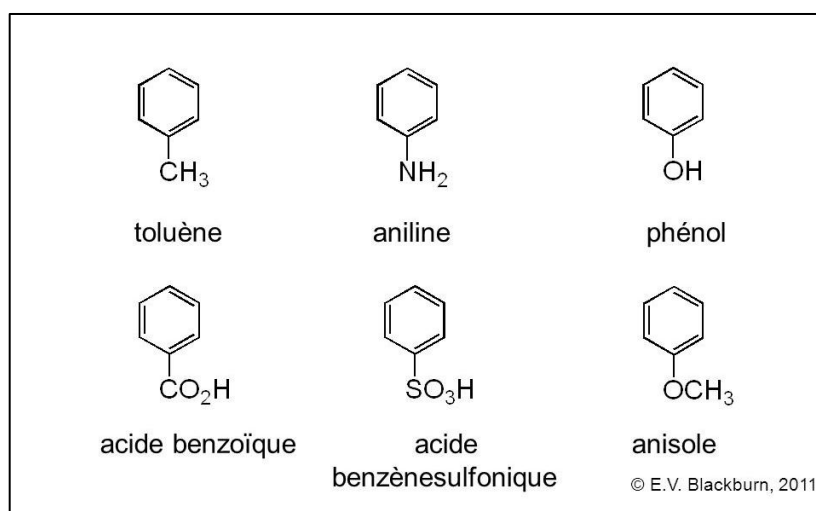
**B. Sesquiterpènes :** C'est la classe la plus diversifiée des terpènes puisqu'elle contient plus de 3000 molécules. Les variations structurales dans cette série sont de même nature que dans le cas précédent, carbures, alcools et cétones étant les plus fréquents (figure 3).



**Figure 3 :** Exemples de quelques Sesquiterpènes (frome heyen and harder ; 2000).

## 4.2. Composés aromatiques

Contrairement aux dérivés terpéniques, les composés aromatiques sont moins fréquents dans les HE. Très souvent, il s'agit d'allyle et de propenylphenol. Ces composés aromatiques (figure 4) constituent un ensemble important car ils sont généralement responsables des caractères organoleptiques des HE. On peut citer en exemple l'eugénol qui est responsable de l'odeur du clou de girofle (Chouiteh ; 2012).



**Figure 4 :** Exemples de quelques Composés aromatiques (frome heyen and harder ; 2000).



### **4.3. Composes d'origine diverse**

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydro distillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions Par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.(Chouiteh ; 2012).

## **5. Méthode d'extraction des huiles essentielles**

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales .En général, le choix de la méthode d'extraction des huiles essentielles dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles). (Hellal.2010).

Il existe plusieurs techniques d'extraction les plus importantes peuvent être résumées comme suit :

### **5.1. Hydrodistillation**

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un ballon lors d'une extraction au laboratoire ou dans un alambic industriel rempli d'eau placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition. La chaleur permet l'éclatement des cellules végétales et la libération des molécules odorantes qui y sont contenues. Ces molécules aromatiques forment avec la vapeur d'eau, un mélange azéotropique. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité. Au laboratoire, le système équipé d'une cohobe généralement utilisé pour l'extraction des huiles essentielles est le Clevenger (El haib, 2011).

### **5.2. Entraînement à la vapeur d'eau**

Dans ce type de distillation, le matériel végétal ne macère pas directement dans l'eau. Il est placé sur une grille perforée au travers de laquelle passe la vapeur d'eau. La vapeur endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte une amélioration de la qualité de l'huile essentielle en minimisant les altérations hydrolytiques (Lucchesi, 2005).

### **5.3. Extraction au CO<sub>2</sub> supercritique**

C'est une des méthodes les plus modernes, mais aussi les plus coûteuses, elle consiste à faire passer dans la masse végétale (en général des fleurs) un courant de CO<sub>2</sub> qui, par augmentation de la pression, fait éclater les poches à essences et entraîne les substances aromatiques. Diverses études tendent à prouver que ce procédé respecterait intégralement l'essence originelle (Franchomme, 2001).

### **5.4. Expression à froids**

C'est une technique d'extraction des essences végétales. Le principe de ce procédé mécanique est fondé sur la rupture des péricarpes riches en huiles essentielles. L'huile essentielle ainsi libérée est entraînée par un courant d'eau formant une émulsion constituée d'eau et d'essence. L'essence est alors isolée de l'eau grâce à une décantation (Bruneton ; 1993).

## **6. Les facteurs de variabilité des huiles essentielles**

L'analyse des huiles essentielles a mis en évidence des facteurs gouvernant le rendement et la composition chimique de celle-ci pour une même espèce, l'étude de corrélation « composition des huiles essentielles – espèces » a permis de caractériser chaque plante et conduit au développement de la chimio taxonomie (classement des plantes) en fonction des facteurs édaphiques (nature de sol, facteurs climatologiques, facteurs biotiques, ...etc.) (Silou, et al ; 1985). D'après El Abed et Kambouche (2003) la teneur et la composition chimique d'une HE varient en fonction d'un grand nombre de paramètres d'origine extrinsèque et intrinsèque et d'ordre technologique.

### **6.1. Facteurs extrinsèque**

Ce sont des paramètres qui touchent particulièrement les conditions écologiques (El Abed et Kambouche; 2003).

#### **6.1.1. Facteurs d'environnement**

La composition en huiles essentielles dépend des conditions liées à l'environnement, sol, climat et techniques sylvicoles (densité de plantation, irrigation, utilisation d'engrais, ...) (Silou, et al ; 1985).

**A. Le sol :** Le développement de la partie aérienne de la plante est en fonction de celui de son système racinaire et de son activité (la forme des racines, leur réparation dans le sol,

leur vitesse d'extension), la variation de la composition chimique des huiles essentielles dépend aussi de la texture du sol, sa structure, de sa teneur en eau ou de sa température. C'est ainsi par exemple deux plantes de la même espèce récoltées à la même période sur des sols différents, ont la composition chimique et la teneur en huile essentielle variables.)(Silou, et al ; 1985).

**B. Le climat :** L'ensemble température, précipitation et lumière agit non seulement sur la croissance et développement de la plante mais aussi sur la qualité substance élaborées au niveau de la plante.(Silou, et al ; 1985)En ce qui concerne la durée d'exploitation au soleil, les températures nocturnes et diurnes, l'humidité, le régime de vent, la pluviométrie sont des paramètres responsables des modifications de la proportion des HE et de sa composition chimique. (El Abed et Kambouche ; 2003) D'autre part, les travaux de Brada, et al ; (2007) ont montré que la différence de composition chimique constatée sur l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* est mise en rapport avec des facteurs abiotiques tels que le climat spécifique aux régions de provenance des échantillons. Les travaux de Yayi-Ladkanetal ;(2012), ont permis de montrer que le rendement et la composition chimique de l'huile essentielle *d'ocimumcanum* Sims varient en fonction du moment de récolte dans la journée et de l'ensoleillement. Le climat est donc un facteur déterminant dans la teneur et la composition chimique de l'huile essentielle. (Silou, et al ; 1985).

### **6.1.2. Facteurs géographiques**

Certaines espèces ont des variétés qui donnent des résultats différents en composition chimique selon qu'elles ont été cultivées en Europe ou en Afrique. C'est le cas de géranium de la Réunion et de l'Océan Indien qui a une valeur double ; car il est riche en Guardienne et en -Epi- eudismol, alors que dans celui d'Afrique le Guardienne est totalement absent. )(Silou, et al ; 1985).

## **6.2. Facteurs intrinsèques**

Ce sont des variables qui dépendent de la plante elle-même (génétique, localisation dans la plante, maturité, ...) (El Abed et Kambouche ; 2003).

### **6.2.1. Cycle végétatif**

Selon Militon, et al (2012), le stade phénologique exerce un effet quantitatif plutôt que qualitatif sur la composition de l'HE, et une nette augmentation des mono terpènes et

### Chapitre III les huiles essentielles

sesquiterpènes a été observée quand les plantes passent de la période de végétation à la floraison. D'autre part le rendement et la composition chimique d'une huile essentielle varient en fonction de cycle végétatif, on note que pour une espèce donnée, la teneur des différents composants de l'huile essentielle peut varier de façon remarquable tout au long du cycle végétatif en rapport avec l'âge de la plante et la période de récolte ou la saison. Autrement dit, certains constituants se trouvant en abondance à des périodes précises par rapport à d'autre par exemple, suivant le mois de récolte, la sauge de Provence dont l'essence est utilisée en pharmacie, produit 60% de carvacrol au mois de janvier contre 10% seulement en octobre. (Silou, et al ; 1985).

#### **6.2.2. Notion de Chimio type**

Hormis les facteurs liés à l'espèce ou à son environnement, des « formes physiologiques » ou « variation chimiques » ont été mise en évidence. Les mêmes espèces cultivées au même endroit peuvent avoir les compositions chimiques (Chimio type). Ce phénomène de variabilité chimique a été observé chez plusieurs espèces, ce qui permet la possibilité d'une sélection de la biodiversité. (Silou, et al ; 1985). Les chimio types ou les races chimiques existent chez de nombreuses plantes aromatiques et fournissent des essences différentes par leur composition. L'un des exemples le plus chimio types différents : thym (*Thym vulgaris* L.). Cette espèce a sept chimio types différents : thym à thymol, carvacrol, géraniol, linanol,  $\alpha$  - terpinéolmyrcénol, thuyanol (El Abed et Kambouche ; 2003).

#### **6.2.3. Localisation des huiles essentielles dans différents parties de la plante**

La teneur et la composition chimique en huile essentielle est variable selon la partie de plante d'où elle est extraite : rhizome, racine, bois, feuilles, écorce, fleur, fruit. (Silou, et al ; 1985) C'est ainsi que le rendement des huiles essentielles, et leurs contenus dépendent du nombre des glandes sécrétrices, et de leur localisation au niveau des différents organes de la plante.

La teneur en HE est plus importante dans les fleurs que dans les feuilles (El Abed et Kambouche ; 2003).

### **6.3. Facteurs d'ordre technologiques**

La qualité des essences n'est pas la même suivant la méthode d'extraction utilisée, on note une variation de la composition et des propriétés des huiles essentielles suivant le mode d'extraction par rapport à la composition du mélange obtenu dans les organes sécréteurs de la

plante à celle de l'extrait par hydrodistillation. Cela est dû au fait que les composants des mélanges naturels sont facilement isomérisés, réarrangés ou encore oxydés. (Silou, et al ; 1985).

En plus des facteurs suscités, il en existe encore d'autres comme les hybridations, les mutations, les affections causées par les parasites ... (El Abed et Kambouche ; 2003).

## **7. Toxicité des huiles essentielles**

Les huiles essentielles peuvent être toxiques à des doses élevées. En générale chez l'Homme l'injection de 10 à 30 ml d'une huiles essentielles peut mortelle, alors qu'à dose plus faible on note des troubles digestifs, de l'hypothermie et une confusion mentale. (Bruneton, 1999).

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque, certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir Irritant (richesse en thymol, ou en carvacrol), Allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde), Phot-toxique (huiles de citrus contenant des furacoumarines), Neurotoxique (les cétones comme l'alfa thujone sont toxiques pour les nerfs), Cancérigène (certains composés des huiles essentielles sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas de dérivés d'allylbenzène comme le safrole) (Guba, 2001).

## **8. Conservation des huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont des substances très délicates. Et s'altèrent facilement, ce qui rend leur conservation difficile. Les risques de dégradation sont multiples :

Peroxydation des carbures et décomposition en cétones et alcools (limonène).....etc.

Ces dégradations peuvent modifier leurs propriétés si elles ne sont pas enfermées dans des flacons propres et secs en aluminium, en acier inoxydable ou en verre teinté, à l'abri de la lumière et de la chaleur (Abdelouahid et Bekhechi, 2014). Dans ces conditions, se conserveront pendant au moins 5 ans (Zhiri et Baudoux, 2016).

# **Partie Expérimentale**

# **Chapitre I :**

## **Matériels et Méthodes**

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau des deux laboratoires :

-Laboratoire d'extraction des huiles et fabrication des produits naturel BIO LERA d'Ouledyaich à Blida.

- Laboratoire de recherche des plantes aromatiques et médicinales de l'université de Blida pour l'évaluation de l'activité antioxydante et étude des caractères physico-chimiques des huiles essentielles. Ce travail a duré 3 mois (Avril-Juin)

## 1. Matériel

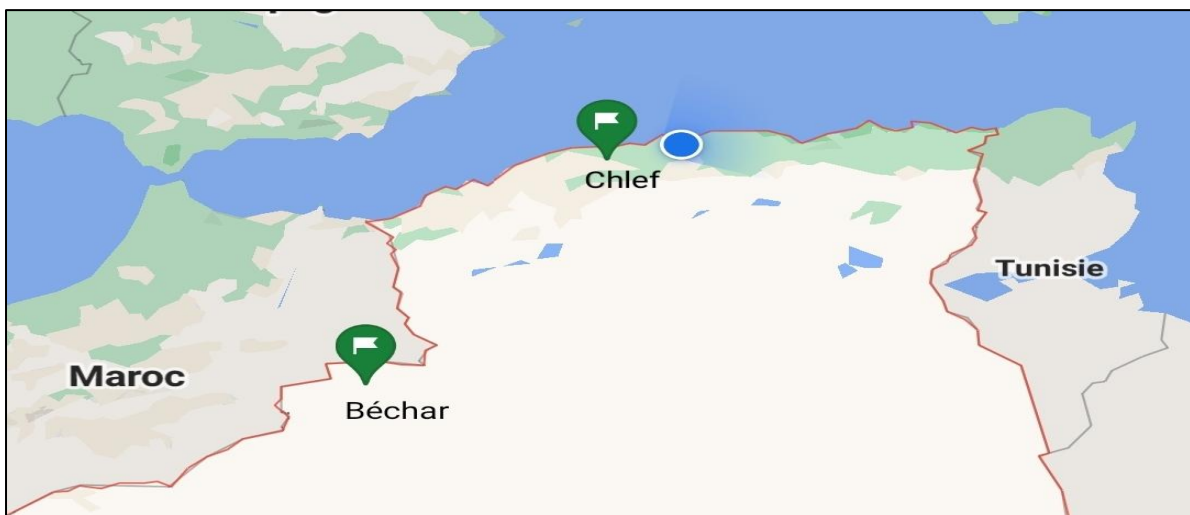
### 1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constituée de la partie souterraine (racine) et la partie aérienne (tige, fleurs, feuilles, entre-nœud) d'individus de *Mentha piperata* L., récoltés dans deux régions différentes d'Algérie (figure5), durant la période de mois d'avril (stade feuillaison).

#### 1.1.1. Echantillonnage

L'échantillonnage a été effectué, durant le mois d'avril 2021, au niveau de deux régions à savoir : Chlef, Béchar. (figure5), Nous avons récolté de manière aléatoire 2 échantillons dont chaque un est composé de 16 individus.

La récolte a été réalisée manuellement en prélevant la plante avec les racines le matin afin éviter le phénomène d'évapotranspiration.



**Figure 5 :** Représentation des localisations d'échantillonnage.



## Chapitre I matériels et méthodes

Les différentes caractéristiques des localités de récolte sont montrées dans le tableau 2

**Tableur 2 :** situation géographique des localités de récolte.

Site d'échantillonnage	Date de récolte	Coordonnées géographiques	Situation	Altitude	Climat
Chlef	02 avril 2021	<ul style="list-style-type: none"><li>• 36°10'26'' Nord ;</li><li>• 1° 20' 12'' Est.</li></ul>	Situé à 2500 km au Nord de la capitale Alger.	Environ 86 mètres	Climat méditerranéen, subhumide dans la partie Nord et un climat continental au sud
Béchar	10 avril 2021	<ul style="list-style-type: none"><li>• 31°37'00'' Nord;</li><li>• 2° 13' 00'' Ouest</li></ul>	Situé à 1150 Km au sud-ouest de la capitale Alger	Max 773 mètres	Climat désertique. Il n'y a pratiquement aucune précipitation pendant l'année (été sec)

### 1.1.2. Matériel non biologique

L'ensemble des verreries, appareillage et réactifs utilisés est mentionné dans l'annexe 1.

## 2. Méthodes d'étude

### 2.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau du matériel végétal par définition est la quantité d'eau, en gramme, par rapport à un gramme de la masse du matériel végétal sec. C'est la valeur optimale pour laquelle le produit ne se détériore pas et garde ses qualités nutritionnelles et organoleptiques (forme, texture, couleur, odeur et huiles essentielles). (Boulemtafes-Boukadoum, et al ; 2008).

La teneur en eau est exprimée en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{Teneur en eau} = (Mf - Ms) / Mf \times 100$$

*Ms* : La masse sèche (g).

*Mf* : La masse fraîche (g).

## 2.2. Etude de la variabilité morphologique

Dans le but d'étudier la variabilité morphologique intra population et inter population de *Mentha x piperata*. Nous avons procédé à des mesures biométriques de 16 individus basées sur 8 caractères morphologiques (Tableur 3 et Figure 6).

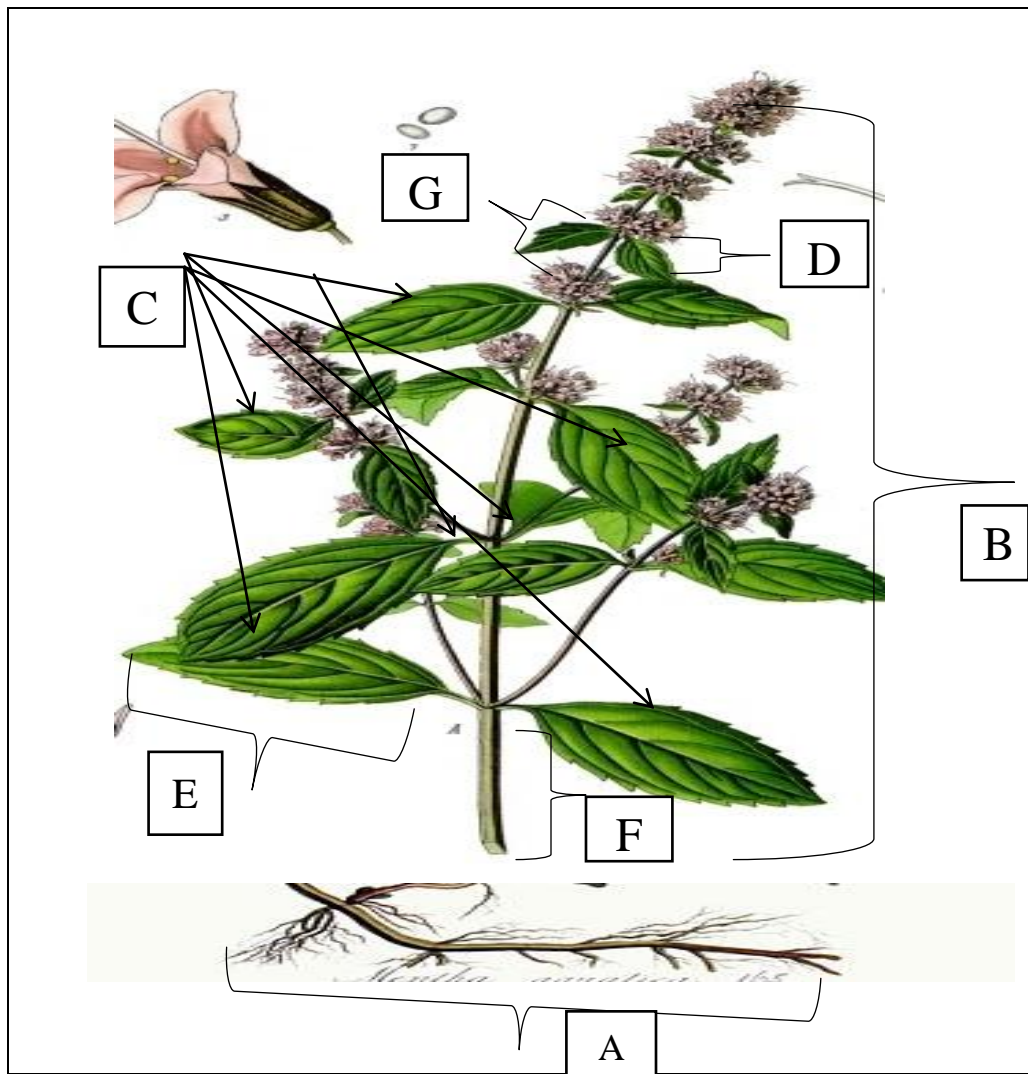


Figure 6 : les différents caractères morphologiques étudiés

**Tableur3** : les différents caractères morphologiques étudiés

	<b>Caractères morphologique étudiés</b>
<b>A</b>	Longueur de la racine principale
<b>B</b>	Longueur de la tige principale
<b>C</b>	Nombre de feuilles par individu
<b>D</b>	Longueur de la plus haute feuille
<b>E</b>	Longueur de la plus basse feuille
<b>F</b>	Longueur du premier entre-nœud
<b>G</b>	Longueur du dernier entre-nœud

### 2.3. Analyses statistiques

Les données biométriques sont traitées par des analyses statistiques multi variées est Les analyses univariées.

Ces analyses ont été obtenues en travaillant avec le logiciel PAST. (Palaeontological Statistics ; version 2.17). C'est un logiciel gratuit dont l'auteur principal est Øyvind Hammer, Muséum d'Histoire Naturelle de l'Université d'Oslo (Norvège).

#### 2.3.1. Analyses statistiques univariées

Les différents paramètres statistiques calculés sont les suivants :

La moyenne :  $(\bar{X}) \bar{X} = \frac{\sum X_i}{N} X_i = \text{variable}$

La variance :  $(\sigma^2) \quad \sigma^2 = \frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N} N = \text{effectif}$

L'écart -type :  $(\sigma) = \sqrt{\sigma^2}$

Les moyennes de nos populations sont comparées au seuil de sécurité de 95 %.

### **2.3.2. Analyse statistiques multivariée**

Pour cette étude nous avons utilisé l'analyse en composante principale (ACP) dans le but d'analyser la distribution des différents individus des deux populations sur les axes des caractères morphologiques étudiés

L'ACP est sans doute la méthode d'analyse de données la plus connue et plus utilisée (Casin, 1998). Elle s'applique à des tableaux à deux dimensions croisant des individus et des variables quantitatives, c'est une méthode descriptive dont l'objet est double : d'une part établir un bilan des ressemblances entre individus ; d'autre part, établir un bilan des liaisons entre variables (caractère morphologique) (Millot, 2013).

D'après Stafford et Bodson (2006) ; l'ACP considère quatre types de relation ;

1. Les relations des variables entre elles.
2. Les relations des variables aux facteurs.
3. Les relations entre les variables d'un même facteur.
4. Les relations entre les différents facteurs.

## **2.4. Evaluation des huiles essentielles**

### **2.4.1. Préparation des échantillons**

Les feuilles récoltées dans les 2 régions ont été séchées séparément à l'ombre dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière et de l'humidité. Pour l'extraction des huiles essentielles. (Figure 7).



**Figure 7 :** Séchage des échantillons de la plante de *Mentha piperata*.

## **2.4.2. Extraction des huiles essentielles**

### **2.4.2.1. Principe**

Les huiles essentielles ont été isolées par hydrodistillation. Cette méthode consiste à immerger directement le matériel végétal à traiter dans un alambic rempli d'eau distillée qui est ensuite porté à ébullition. Les vapeurs hétérogènes sont condensées sur une surface froide et l'huile essentielle se sépare par différence de densité (Bruneton, 1999).

### **2.4.2.2. Mode d'opérateur**

Mettre 90g du matériel végétal sec dans un ballon rond de 1000 ml et introduire 750 ml d'eau dans le même ballon.

Chauffer le contenu avec un chauffe ballon La vapeur se change de substances volatils, puis condensé grâce à un réfrigérant, Poursuivre la distillation jusqu'à obtention de maximum des HE, La récupération des HE est faite après la lecture du rendement à l'aide de la burette graduée attaché à l'appareil

## 2.5. Détermination de rendement

Le rendement en huile essentielle ( $R_{HE}$ ), est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après extraction ( $M_{HE}$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M_s$ ). Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante:

$$R = (M_{HE} / M_s) \cdot 100$$

**R**: Rendement de l'huile essentielle (%).

**$M_{HE}$** : Quantité d'extrait récupéré (masse d'huile essentielle récupérée) en (g).

**$M_s$** : Quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en (g).

## 2.6. Propriétés physico-chimiques

### 2.6.1. Propriété physiques

L'observation à l'œil nu permet de définir les propriétés physiques de notre HE telle que la : Couleur, l'odeur, l'aspect, et l'état.

### 2.6.2. L'indice de réfraction

#### 2.6.2.1. Principe

L'indice de réfraction d'un milieu rapporté à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air et le sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré (Pharmacopée Européenne 2008).

#### 2.6.2.2. Mode d'opérateur

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée
- Placer 2 à 3 gouttes des huiles essentielles testées sur l'appareil.
- Régler le réfractomètre jusqu'à la stabilisation.
- Lire la valeur de l'indice de réfractomètre sur le cercle gradué.

### 2.6.3. Densité relative à 20°C

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C. La densité relative est mesurée par une suite de pesées à l'aide d'un pycnomètre.

## Chapitre I matériels et méthodes

Après nettoyage et séchage du pycnomètre, il a été pesé et rempli d'eau distillée. Le pycnomètre a été retiré, essuyé extérieurement et pesé.

La même procédure est suivie pour l'huile en remplissant le pycnomètre par le même volume d'huile. Ensuite, le pycnomètre est essuyé et pesé.

La densité relative se détermine :

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

**m<sub>0</sub>** : masse du pycnomètre vide.

**m<sub>1</sub>** : masse du pycnomètre rempli d'eau distillée.

**m<sub>2</sub>** : masse du pycnomètre rempli d'huile.

### **2.6.4. Potentielle d'hydrogène**

PH l'abréviation de potentielle d'hydrogène, mesure l'activité chimique des ions hydrogènes (H<sup>+</sup>) en solution. Plus couramment, le PH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre :

- elle est acide si son Ph est inférieur à 7.
- elle est neutre si son Ph est égale à 7.
- elle est basique si son Ph est supérieur à 7.

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un PH-mètre.

## **2.7. Activité anti-oxydante des huiles essentielles**

### **2.7.1. Principe**

L'activité antioxydant in vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par (Burits et Bucar), où 50µl de chacune des solutions méthanoliques de l'huile essentielle testées à différentes concentrations (200, 400, 600, 800 et 1000 µg/ml) sont mélangées avec 5 ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004 %). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 517 nm. L'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée à la même concentration pour comparaison. On détermine la cinétique de la réaction et les paramètres de calcul de l'activité antioxydant pour la vitamine C et pour l'huile essentielle (Pourcentage d'inhibition, l'index IC50).

### 2.7.2. Détermination du pourcentage d'inhibition et l'IC50

Selon Sharififar et al, L'inhibition du radical libre de DPPH en pourcentage (I%) est calculée de la manière suivante :

**L'IC50** :c'est la concentration de l'échantillon nécessaire pour réduire de 50% le radical DPPH (qui correspond à une absorbance égale à 0.5).

$$I\% = \frac{A_{blanc} - A_{échantillon}}{A_{blanc}}$$

Avec :

**A blanc** : Absorbance du blanc (méthanol).

**A échantillon** : Absorbance du composé d'essai.

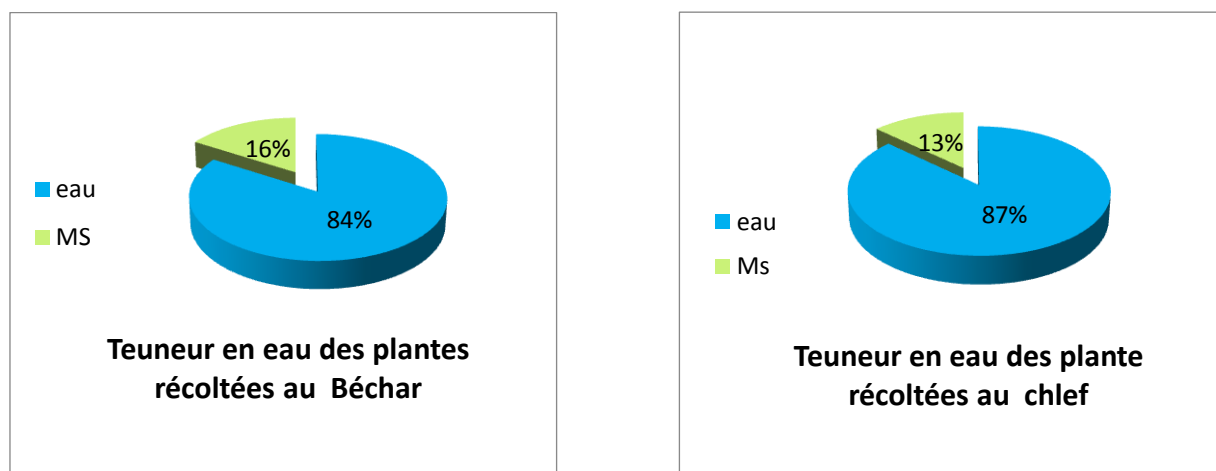
La cinétique des réactions de l'huile essentielle et de la vitamine C avec le DPPH• a été inscrite à chaque concentration examinée. Les concentrations en huile essentielle et en vitamine C, en fonction des pourcentages du DPPH inhibés, ont été tracées à la fin de la réaction afin d'obtenir l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du DPPH• initiale de 50 %.



## **Chapitre II :** Résultats et discussions

## 1. Détermination de la teneur en eau

Les résultats de la teneur en eau de la partie aérienne de *Mentha Piperata* de deux régions étudiées sont représentés dans la Figure 8.



**Figure 8:** Teneur en eau de la partie aérienne d' *Mentha Piperata* provenant des deux régions étudiées.

La détermination de la teneur en eau de la partie aérienne de *Mentha Piperata* a révélé un taux de 83% des échantillons récoltés au niveau de la localité de Béchar et 87% des échantillons récoltés au niveau de la localité de Chlef. Ce qui signifie que 16%, 13% respectivement, représente le taux de matière sèche ayant servi à l'extraction des huiles essentielles.

Les résultats de la teneur en eau nous permettront de calculer le rendement en HE obtenue dans la matière fraîche.

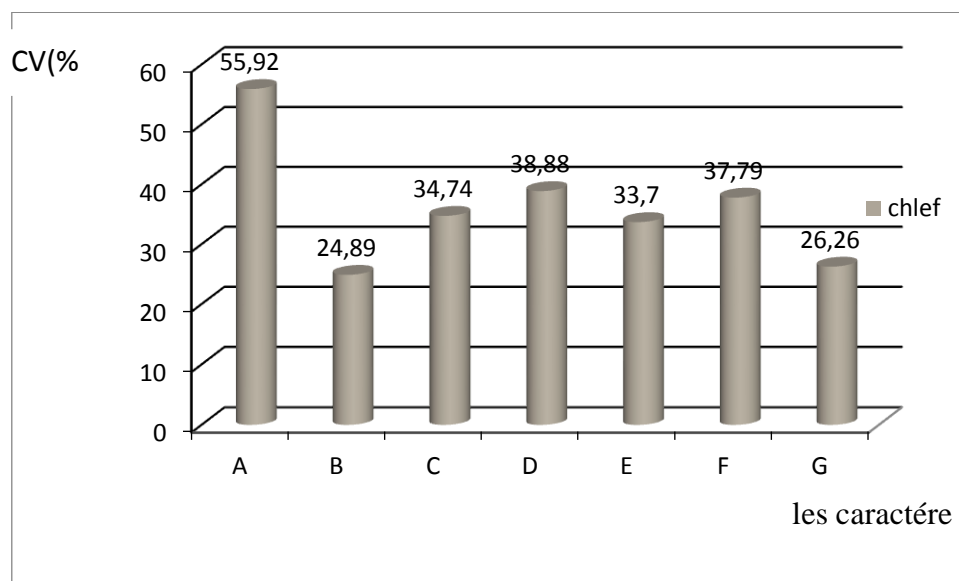
## 2. Analyses statistiques univariées

### 2.1. Coefficients de variation

Les valeurs des caractères statistiques classiques ( $\bar{X}$ ,  $\sigma$ , et C.V) correspondants aux différents caractères morphologiques étudiés pour les deux stations sont montrées dans l'annexe 2,

➤ **Localité de Chlef**

Les coefficients de variations des différents caractères étudiés des plantes provenant de Chlef sont représentés par la figure 9.



Les caractères A, B, C, D, E, F, G montre donnent la figure 6

**Figure 9 :** Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant de Chlef.

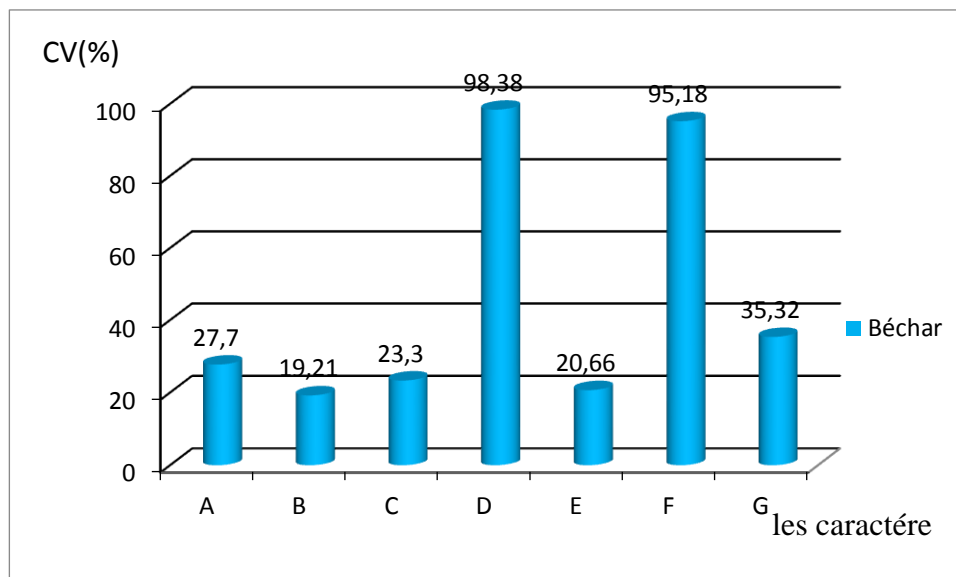
D'après les résultats obtenus le caractère A (longueur de racines principale) est plus variable par rapport à l'ensemble (55.92%). Cette variabilité est un peu plus faible pour le caractère de la longueur de la plus haut feuille D (38.88%).

La longueur de tige(B), et la longueur de dernier entre nœud (G), et présente des coefficients des variations plus faibles (24.89% ,26.26% respectivement).

Les coefficients de variation de trois caractères, longueur de la plus basse feuille (E), nombre de feuille par individus (C) et longueur de premier entre nœud (F) sont encore plus faibles (33,7% / 34,74% et 37,79% respectivement).

➤ **Localité de Béchar**

Les coefficients de variations des différents caractères étudiés de Béchar sont représentés par la figure 10.



Les caractères A, B, C, D, E, F, G montre donnent la figure 6

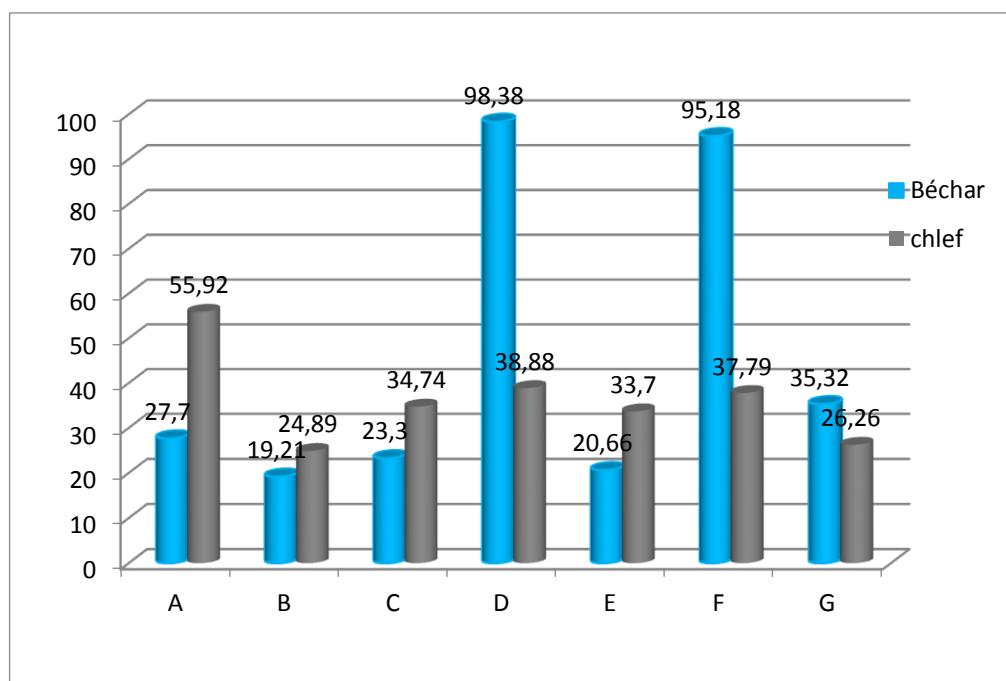
**Figure 10 :** Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant de Béchar.

D'après ces coefficients de variation les deux caractères, la longueur de la plus haut feuille (D) et longueur de premier entre nœud(F) sont les plus variables par rapport à l'ensemble (98,38% et 95,18%). Cette variabilité est un peu plus faible pour le caractère longueur de dernier entre nœud G (35,32%).

La longueur de racines principale(A), nombre de feuille par individus (c), La longueur de premier entre nœud (E) présentent des coefficients de variation plus faibles (27,7% /23,3% et 20,66% respectivement). Le caractère B (La longueur de tige) présente le coefficient de variation le plus faible (19,21%) pour la station de Béchar.

➤ **Comparaison entre les coefficients de variation des plantes des deux localités**

Les coefficients de variations des différents caractères étudiés de l'ensemble de deux stations sont représentés dans la figure 11.



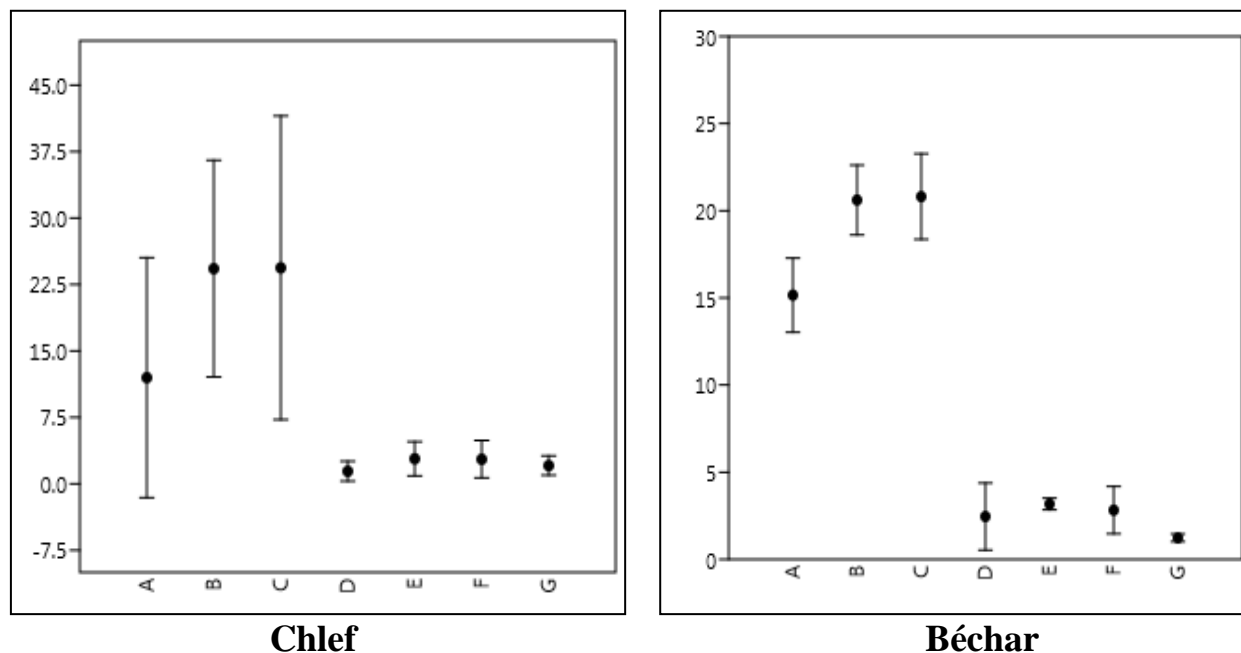
Les caractères A, B, C, D, E, F, G montre donnent la figure 6

**Figure 11:** Coefficient de variation des différents caractères morphologiques étudiés des plantes provenant dans les deux stations.

Les caractères morphologiques : la longueur de la plus haute feuille (D), longueur du premier entre nœud (F), des individus provenant de Bechar présentent une grande variabilité par rapport à l'ensemble. La longueur de racines principale (A) est variable pour les échantillons provenant de Chlef.

## 2.2. Etude de la variabilité par les moyennes et les intervalles de confiance

Les résultats des moyennes et des intervalles de confiance sont représentés par la figure 12.



**A :** Longueur de la racine principale, **B:** Longueur de la tige principale **C:** Nombre de feuilles par individu, **D:** Longueur de la plus haute feuille, **E:** Longueur de la plus basse feuille, **F:** Longueur du premier entre-nœud, **G:** Longueur du dernier entre-nœud.

**Figure 12:** Répartition graphique des intervalles de confiance des caractères morphologiques étudiés des plantes provenant au niveau de la localité de Chlef et Béchar. .

Pour les caractères longueur de racine principale (A), longueur de tiges (B) et nombre de feuille par individu (C) ; les moyennes des plantes des deux localités sont proches.

Pour les autres caractères longueur de la plus haute feuille (D), longueur du premier entre-nœud (F), longueur du dernier entre-nœud (G) ; les moyennes sont plus ou moins différentes entre les individus des deux localités.

Concernant la variabilité intra-population, les deux stations présentent une hétérogénéité pour longueur de la plus haute feuille (D), longueur du premier entre-nœud (F), longueur du dernier entre-nœud (G).

Les populations des deux localités présentent une forte homogénéité pour la longueur de la racine principale (A), l'homogénéité est aussi importante pour le caractère nombre de feuille par individu (C) et longueur de la tige (B) de l'ensemble des individus.

### 2.3. Coefficients de corrélation

Les coefficients de corrélations des différents caractères étudiés sont représentés dans le tableau 4, les résultats peuvent être analysés selon l'échelle suivante :

$0 \leq r \leq 0,4 \rightarrow$  corrélations faibles

$0,4 \leq r \leq 0,6 \rightarrow$  corrélations moyennes

$0,6 \leq r \leq 1 \rightarrow$  fortes corrélations

**Tableau 4:** Coefficients des corrélations des différents caractères morphologiques

	A	B	C	D	E	F	G
A		0,8749	0,26752	0,20631	0,60512	0,98357	0,51842
B	0,028978		0,02145	0,70902	0,82214	0,76951	0,011281
C	0,20202	0,67552		0,84035	0,02348	0,31915	0,094547
D	0,22954	-0,068621	-0,037075		0,57385	0,82865	0,45339
E	0,33548	0,041366	0,39954	0,10326		0,55907	0,27252
F	-0,0037902	0,053906	0,18187	-0,03983	-0,10725		0,28169
G	-0,11847	0,44216	0,30063	-0,13738	-0,19996	0,19626	

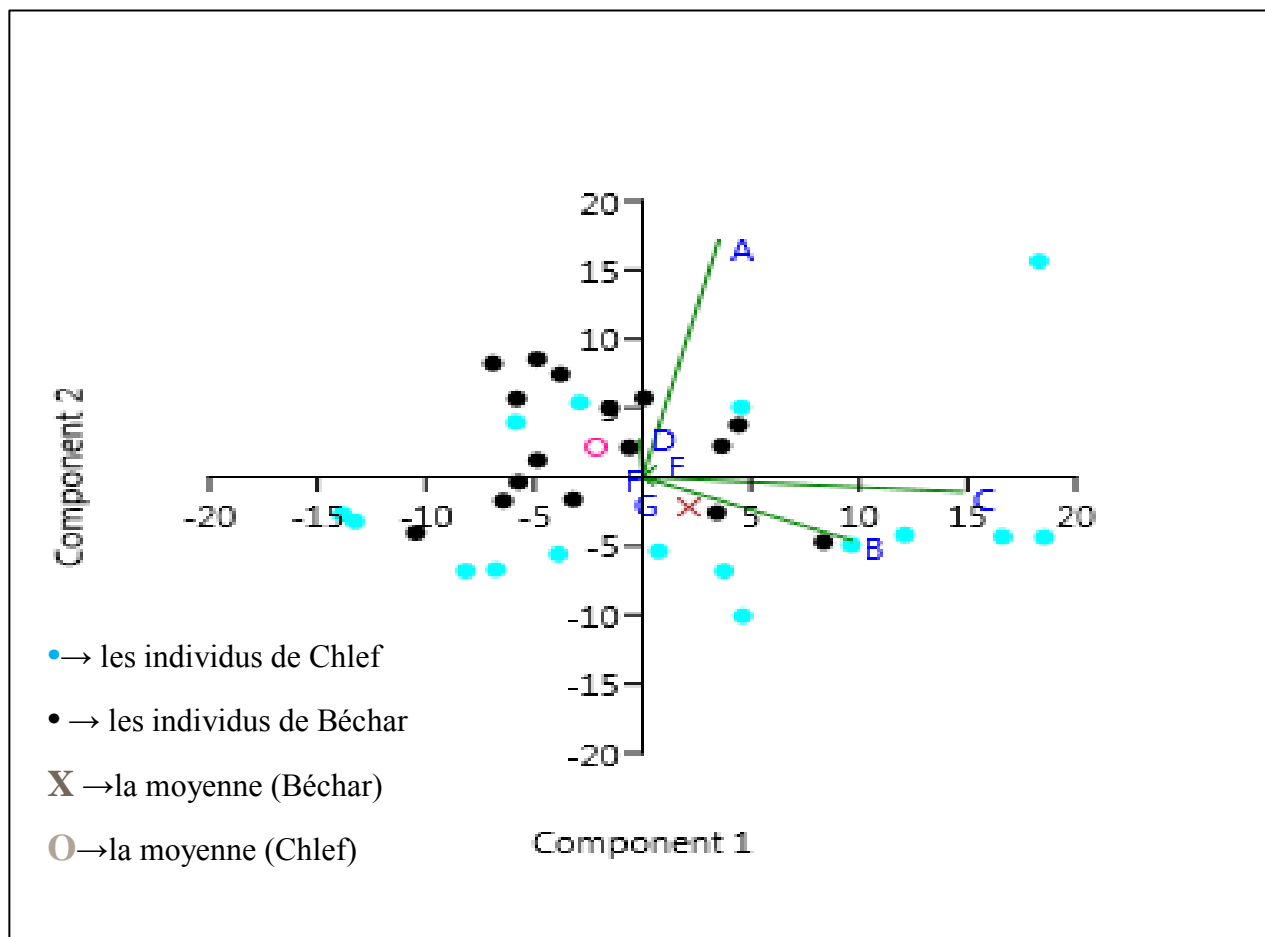
D'après les résultats montrés dans le tableau 4 nous distinguons l'existence d'une forte corrélation entre le caractère F(longueur du premier entre-nœud) avec les caractères A(longueur de la racine), B (longueur de la tige) et le caractère D (longueur de la plus haute feuille). De même les deux caractères B(longueur de la tige) et D (longueur de la plus haute feuille) présentent de fortes corrélations entre eux et avec le caractère C(nombre de feuille par individu).

Les autres corrélations sont soit moyennes ou faibles.

### 3. Analyses en composante principale (ACP)

Nous avons retenu les deux premiers axes qui totalisent à eux seuls environ 81.786% de l'information totale, dont 55.215% pour l'axe 1 ; 26.571% pour l'axe 2.

La figure 13 montre les répartitions des individus et des caractères sur le plan 1-2 de l'ACP.



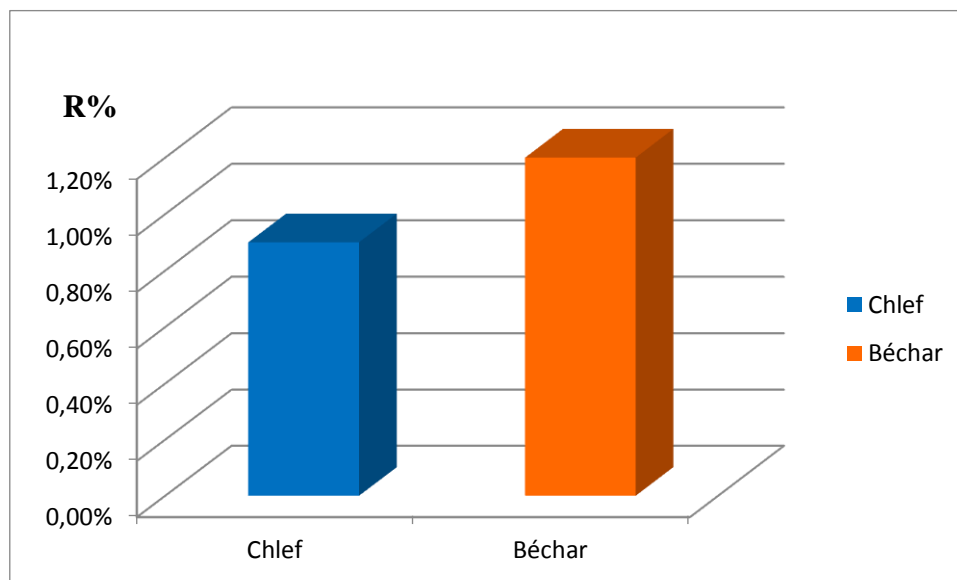
**Figure 13 :** Répartition des individus et caractères morphologiques sur le plan 1-2 de l'ACP

Les individus des deux localités occupent la partie négative et la partie positive de l'axe 1 et de l'axe 2. Cette répartition est dépendante des trois caractères, longueur de la racine principale (A), Longueur de la tige principale(B), nombre de feuilles par individus (C). Nous remarquons cependant que la répartition des individus de Chlef sur l'axe 1 est plus élargie occupant presque tous l'axe.



#### 4. Détermination du rendement des huiles essentielles

Les résultats de rendement des huiles essentielles de *Mentha Piperata* de deux régions étudiées sont représentés dans la Figure 14.



**Figure 14 :** Le rendement en HE d' *Mentha Piperata* provenant des deux régions étudiées.

Nous remarquons nettement que la teneur en huile essentielles des échantillons récoltés au niveau de la localité de Béchar est plus élevée (1.20%) par rapport à celle des échantillons récoltés au niveau de la localité de Chlef (1.00%).

Ces valeurs sont acceptables selon AFNOR (0.38%-1.2%).

Nos valeurs sont supérieures à celles obtenues par d'Abadlia et Chebbour (0.64%) et Senoussi et al ; (2015) en Tunisie (1,1%) et à celles de Chine (0,5-0,8 %) (Zhao et al. 2013).

Généralement les différences dans le rendement doivent être essentiellement dues à la différence de morphologie des plantes. Est de leur organe et l'interaction avec l'environnement (type de climat et sol).

#### 5. Relation entre la variabilité et le rendement

L'analyse de la variabilité morphologique a été étudiée par de nombreux auteurs et sur plusieurs espèces : le basilic (Baroffio, et al ; 1964), sur *Atriplex* (Abbad, et al ; 1975) et sur le blé dur (Ghanai, 2004).

Nos résultats montrent une différence des rendements en huile essentielle selon les deux localités. Les résultats montrent que les rendements en huile essentielle les plus élevés ont été obtenus pour la région aride, on note cependant de cette région la population est plus variable que celle de Chlef. En effet les valeurs, les résultats de l'ACP et les IC des individus de Béchar montrant une distribution plus longue sur les axes de l'ACP, de même les IC, sont plus grands surtout pour les 3 caractères A, B, C. Nous prônons que les rendements les plus élevés sont alternés pour les populations les plus variables.

- La variabilité de la composition peut être attribuée aux conditions climatiques et géographiques entre les régions. (Akrouf *et al*, 2001).
- Le rendement en huile essentielle, dépend de nombreux facteurs (stade de croissance, conditions pédoclimatiques, technique d'extraction, etc.) (Sefidkon *et al*, 2001).

## 6. Détermination des caractères physicochimiques :

### 6.1. Propriétés organoleptiques :

Les propriétés organoleptiques des huiles essentielles des échantillons récoltés au niveau de la localité de Chlef et de Béchar sont indiquées dans le tableau 5.

**Tableau 5:** Les caractères des huiles essentielles de l'espèce étudiée

	Aspect	Odeur	Couleur
<b>HE de Chlef</b>	Liquide Mobile	Très forte odeur caractéristique	Jaune pâle
<b>HE de Béchar</b>	Liquide Mobile	Très forte odeur caractéristique	Jaune
<b>Norm selon AFNOR</b>	Liquide Mobile Limpide	Caractéristique fraîche, plus ou moins mentholée selon l'origine.	Presque incolore à jaune pâle

Selon le tableau 5 : l'aspect, l'odeur et la couleur de l'huile essentielle étudiée sont conformes aux normes AFNOR.

## 6.2. Indice de réfraction

Les valeurs obtenues pour les indices de réfraction sont indiquées dans le tableau 6.

**Tableau 6:** indice de réfraction des huiles essentielles étudiées

	HE de Chlef	HE de Béchar	Norm selon AFNOR
<b>IR</b>	1,4502	1.4503	1.4600-1.500

Notre indice de réfraction mesuré est conforme aux normes. Nos valeurs sont presque similaires à ceux d'Abadlia et Chebbour(2014) (1.4800).

## 6.3. Densité relative

La densité relative d'une huile est le rapport de la masse d'un certain volume d'huile à 20°C à la masse d'un volume égal d'eau distillée à 20°C.

Les valeurs obtenues pour la densité relative sont indiquées dans le tableau 7.

**Tableau 7:** densité relative à 20°C.

	HE de Chlef	HE de Béchar	Norm selon AFNOR
<b>D20</b>	0.872	0.974	0.820 - 0.9900

Selon le tableau 7 on a trouvé une valeur de densité voisine à la norme d'AFNOR.

Nos valeurs sont presque similaires à ceux d'Abadlia et Chebbour(2014) : 0.8870

## 6.4. Potentielle de hydrogéné

Les valeurs obtenues pour la potentielle de hydrogéné sont :

Le pH des échantillons récoltés au niveau de la localité de Chlef (PH=6.3) est presque similaire à celui des échantillons provenant au niveau de la localité de Béchar PH=6.5, on peut dire que l'huile essentielle de la menthe poivrée étudié présente un pH presque acide. Cette acidité est due à la composition chimique des HE qui se considère comme donneur des H<sup>+</sup>.

Nos valeurs sont presque similaires à ceux obtenus par Abadlia, et Chebbour (2014) qui ont obtenu un PH= 6.92.

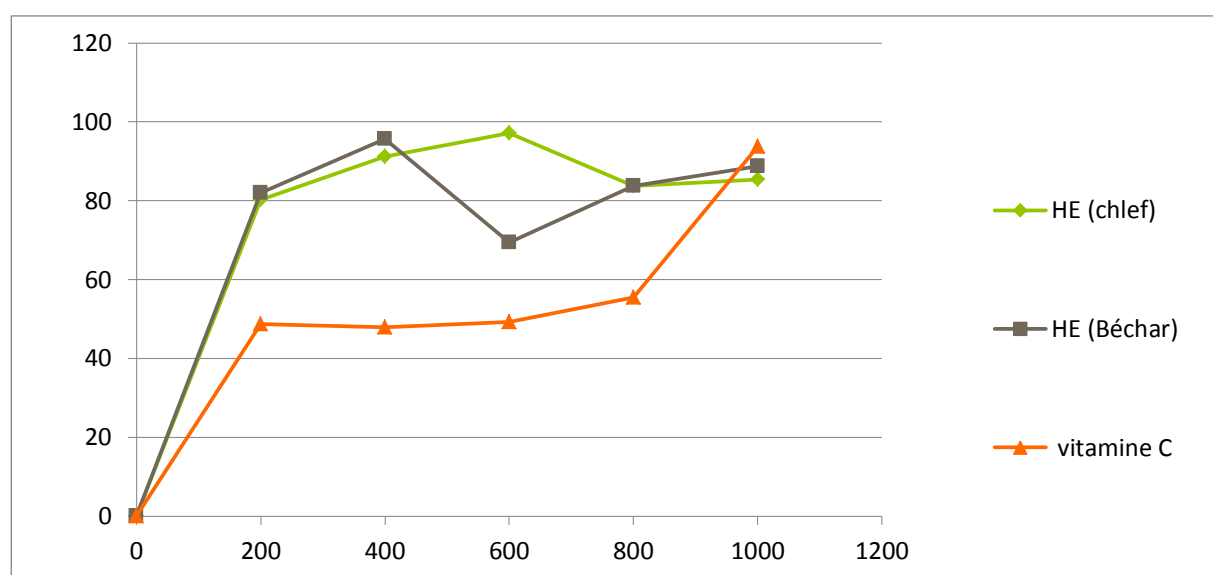
## 7. Activité antioxydante

L'activité antioxydant d'HE de *Mentha piperata* été évaluée par le test du piégeage du DPPH. Les valeurs ont comparée à celle de vitamine C.

Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau 1 (voir l'annexe III).

### 7.1. Indice d'inhibition

Les résultats obtenus lors du test de mesure de pourcentage d'inhibition du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) sont enregistrés dans figure 15.



**Figure 15 :** Pourcentage d'inhibition du radical libre par les huiles essentielles et la vitamine C

Le pourcentage d'inhibition du radical libre pour la vitamine C augmente avec l'augmentation de la concentration.

Par contre les pourcentages d'inhibitions du radical libre pour l'huile essentielle de *Mentha piperata* des deux localités augmente et diminue jusqu'à la stabilité dans la concentration (1000 µg/ml).

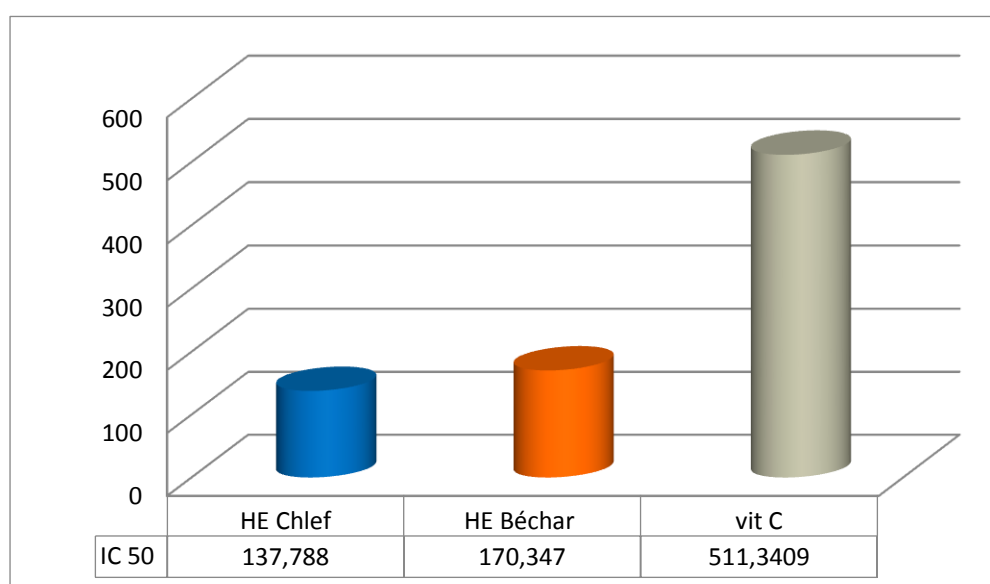
On remarque que le pourcentage d'inhibition du radical libre pour les deux huiles essentielles est supérieur à celui de la vitamine C pour toutes les concentrations (200, 400,

600,800).

Pour une concentration de (1000 $\mu$ g/ml), l'huile essentielle de Béchar et Chlef a révélé un pourcentage d'inhibition de DPPH de 88.36% et 85.36% respectivement tandis que la vitamine C est de 93.82%.

## 7.2. Détermination d'IC50

Les résultats obtenus lors du Détermination d'IC50 sont enregistrés dans figure 15.



**Figure 16 :** Valeurs des IC50 des différents extraits et vitamine C.

D'après les valeurs des IC50 montrés dans la Figure16, nous remarquons que l'HE des échantillons provenant de localité de Chlef présente une valeur d'IC50 plus faible (137.788 $\mu$ g/ml) par rapport à celle de l'HE de localité de Béchar (170.347 $\mu$ g/ml).

L'acide ascorbique peut une valeur d'IC50 plus grands par rapport à tous les extraits de (511.340 $\mu$ g/ml), possède alors la plus faible activité anti radicalaire comparativement aux autres extraits testés.

Nous pouvons dire que les huiles essentielles de nos échantillons procèdent une activité antioxydant. Ce résultat est déjà obtenu par Abadlia, et Chebbour (2014) et Hadj Ahmed et Kouider Mahmoud (2017) qu'a travaillé sur l'huile essentielle de la Menthe poivrée provenant d'une activité antioxydante inférieure de celle de notre activité des huiles essentielles.



## **Conclusion**

Ce travail vise l'étude de la variabilité morphologique et sa relation avec le rendement en huiles essentielles pour des individus de *Mentha piperata* récoltés dans deux localités différentes d'Algérie : Station semi-aride : Chlef  
Station aride : Béchar

L'analyse de la variabilité a été réalisée par des analyses statistiques univariées est multivariée de quelques caractères morphologiques : la longueur de la plus haute feuille et longueur de premier entre nœud sont plus variables que les autres caractères (longueur de la racine principale et nombre de feuille par individus) ; Les caractères de la longueur de tige sont plus ou moins variables. Les caractères des individus de Béchar sont un peu plus variable que ceux les individus de Chlef.

L'analyse en composante principale sépare les individus de deux localités selon les caractères. En effet les caractères de la longueur de tige (B), nombre de feuille par individus (C), La longueur de premier entre nœud (E) et la longueur de dernier entre nœud (G) contribuent à la distribution des individus de Béchar.

L'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation de type Clevengueur a donné un rendement plus élevé pour des échantillons récoltés au niveau de la localité de Béchar (1.20%) que le rendement de localité de Chlef (1.00%). La différence entre les rendements est due aux différences climatiques et distribution géographique entre les deux localités. On note cependant que les populations les plus variables présentent le rendement le plus importante.

L'étude de l'activité antioxydant a montré que les huiles essentielles de la *Mentha piperata* est contenue une activité antioxydant plus importante que la Vit C.

Notre étude doit être complétée par :

- l'analyse de la variabilité et l'évaluation de rendement des échantillons provenant des plusieurs localités.
- L'analyse qualitative des huiles essentielles.
- Compléter ce travail par d'un étudier plusieurs activités biologiques des huiles essentielles et d'autres extraits.





## Reference Bibliographiques

- **Abadlia. M .,Chebbour. A.** 2014. Etude des huiles essentielles de la plante mentha piperita et tester leur effets sur un modèle biologique des infusoires. Univconstantine 1. Algerie.
- **Abdelouahid. D., Bekhechi. C.** 2014. Les huiles essentielles. Edition office des publications universitaires (2éme réimpression).
- **AFNOR.**2000. Recueil de Normes: Les Huiles Essentielles. Tome 1. Echantillonnage et Méthodes d'Analyses. AFROR, Paris.
- **AFROR.** 1986. Récupérations des Normes Français Les huiles essentiels », Afrin Paris.
- **Alzieu. 2003. selon krelifa. A.**2011. Etude de la variabilité morphologique des espèces d'Artemisiacampestris provenant de deux stations de Tébessa : relation avec le rendement des huiles essentielles.
- **Baba Aissa. F.** 1999-Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Ed Librairie moderne. ROUIBA.
- **Babulka. P.** 2007 : plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne ; phytothérapie, Vol 5
- **Barada. M.** 2007- contribution à l'étude de l'extraction des huiles essentielles et des concrètes de deux espèces de menthe : « Mentha pulegium et Mentha rotundifolia » Etude cinétique et analytique. Thèse Doc. Univ. Blida Faculté des Sciences Ingénieure Depr. Chimie Industrielle spécialité : génie des procédés Algérie.
- **Benayad. N.** 2008- Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Rapport finale Laboratoire des Substances Naturelles et Thermolyse Eclair Dépar. De chimie Faculté des Sciences de Rabat Maroc.
- **Bidault. M.** 1971. Variation et spéciation chez les végétaux supérieurs. Notion fondamentales de systématique moderne. DoinEdts, Paris.
- **Boulemtafes. Boukadouml. A.,Benaouda1. N., Derbal1. H.,Benzaoui. A.** 2008. Analyseénergétique et thermique du processus de séchage de la menthe par énergie solaire Revue desEnergies Renouvelables SMSTS'08 Alger.

## Reference Bibliographie

- **Bourkhiss.M., Hnach. B., Bourkhiss. M., Ouhssine. A., Chaouch.B., Satrani**2009. effet de séchage sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* (Vahl) Master AGROSOLUTIONS VOL.
- **Bruneton. J.** « Pharmacognosie, phytochimie ; Plantes médicinales, monoterpènes et Sesquiterpènes » TCE et DOC, 3eme édition, Lavoisier, Paris, 1999.
- **Bruneton. J.** 1993. Pharmacognosie: phytochimie plantes médicinales.
- **Bruneton. J.** 1999. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème Edition. Paris.
- **Brunton. J.** Pharmacognosie photochimie plantes médicinales 3ème édition. Paris
- **Casin, 1998. Selonkrelifa. A.** 2011. Etude de la variabilité morphologique des espèces d'*Artemisiacampestris* provenant de deux stations de Tébessa : relation avec le rendement des huiles essentielles.
- **Charles. D. J.** 2013. Saffron. In antioxydant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media. Dans Traité de phytothérapie et d'aromathérapie, éd. Maloine, 1979.
- **Chouiteh. O.** composition chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Glycyrrhizaglabra*[thèse] Oran : Université d'Oran 2012.
- **Daniel. J.,Rodolphe – Edouard. S., Vincent. V.S.** 2002. Botanique systématiques des plantes à fleurs (Collection biologique). 2ème Edition. PPUR. 328
- **Dorosso Sonate J.** Composition chimique des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques de la zone soudanienne du Burkina Faso : valorisation. Université Ouagadougou.2002.
- **Eberhardt.,Robert. A., Annelise. L.,** 2005. Plantes aromatiques épices aromates condiments et huiles essentielles. TEC et DOC. Paris.
- **El abed.D.,Kambouche. N.** 2003 : les huiles essentielles, Edition der Elgharb, Oran.
- **El haib. A.** 2011. Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques thèse de doctorat en Chimie organique et catalyse. Université Toulouse III. Paul Sabatier.
- Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Édition Roger Jollois.
- **Erceau. C., Pasquier. B.** 2016. ; *Mentha x piperitasubsp. Piperita* Diversité des aspects morphologiques, agronomiques et chimiques de variétés et clones collectés par

## Reference Bibliographie

le CNPMAI Conservatoire National des Plantes à Parfum, Médicinales, Aromatiques et Industrielles. APG IV : quatrième version (2016).

- **Évidence box.** Les huiles essentielles dans les cosmétiques [en ligne]. [Consulté le 05 Juin 2020]. Disponible sur <http://box-evidence.com>.
- **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. Porphyte 2007, 13.
- **Franchomme. P., Jollois. R., Pénéol. D.,** 2001. L'aromathérapie exactement ; EEdition Roger jollois Dépôt légal: 4ème trimestre 2001.
- **Georges Sens-Olive,** « Les huiles essentielles - généralités et définitions », [en ligne]. [Consulté le 05 Juin 2020]. Disponible sur [http://www.physique-et-matiere.com/huile\\_essentielle.php](http://www.physique-et-matiere.com/huile_essentielle.php).
- **Gilly.G.** les plante à parfum aromatique et médicinales in le grand atlas de la France rurale J.P. de Monza INRA Paris 1989
- **Guba. R.** toxicitymyths-essentielle oils and theircarcinogenicpotential. International Journal of Aromatherapy, 2001.
- **Hadj Ahmed. S., Kouider. M.** 2017. Etude de l'extraction et de l'activité Biologique des huiles essentielles de Menthe dans la région d'Ain Defla.
- **Hammami.S., Abdesselem. M.** 2005. Extraction et analyse des huiles essentielles de la menthe poivrée de la région d'Ouargla. Thèse ; Univ Blida P69.
- **Hapatocarcinogenicities** of alkenylbenzenederivativesrelated to estragole and safrole on administration to preweanling male C57BL/6J x C3H/HeJ FI mice. Cancer Res. 47.
- **Hellal. Z.** Contribution à l'étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydants de certaines huiles essentielles extrait des Citrus Application sur la sardine. (2010). Thèse Univ Mouloud Mammeri Tizi-OUzou. Algerie.
- **Hnatyszyn. M., Guais A.,** 1988. Les fourrages et l'éleveur. Paris, Lavoisier, Tec&Doc.
- **Ibane. L.** 2012. Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de Lavandulaofficinalis: application aux moisissures des légumes secs. Nature &Technology, volume 4 Numéro 2.
- **Iserin. P.** 2001. Encyclopédie des plantes médicinales. Ed ISBN.
- **Iserin.P.** 1990. Encyclopédie des plantes médicinales; édition Larousse. Paris.
- **Kaloustian. J., Hadji-Minaglou. F.** La connaissance des huiles essentielles : qualitologie et aromathérapie. Paris. Edition Springer. 2011

## Reference Bibliographie

- **Khenaka. K.** 2001. Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de magister, université de Constantine.
- **Kouame. N. M., Kamagate. M., Koffi. C., Die-Kakou. H. M., Yao, N. A. R., & Kakou. A.** 2016. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf : ethnopharmacologie, phytochimie, activités pharmacologiques et toxicologie. *Phytothérapie*, 14(6).
- **Lodé.** 1997. Trophic status and feeding habits of the European polecat *Mustela putorius* L. 1758. *Mammal Review* 27.
- **Lucchesi. M.E.,** 2005. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en Sciences. Université de la Réunion.
- **Lucotte. G.** 1978. Abrégé de biochimie moléculaire. Doin Edts, Paris (FRS) Masson.
- **Mader. S.** 2001. *Biology Laboratory Manual*, seventh édition (édité par Mc Graw-higher Education), Etats-Unis.
- **Mayer. F.** utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Etude de cas en maison de retraite. [Thèse] Université de Lorraine, 2012.
- **Medjber. T.** 2002. Etude du comportement de quelques variétés et populations de Luzerne dans deux milieux différents de la région d'Ouargla. Thèse de magistère en phytotechnie. I.N.A d'El Harrach.  
Mentha spicata Essential Oil: Chemical Composition, Antioxidant and Antibacterial Activities against Planktonic and Biofilm Cultures of Vibrio spp. Strains., Laboratoire de Biotechnologie de l'Olivier, Centre de Biotechnologie de Borj Cedria, Tunisia.
- **Millot.** 2013. selon **krelifa. A.** 2011. Etude de la variabilité morphologique des espèces d'*Artemisia campestris* provenant de deux stations de Tébessa : relation avec le rendement des huiles essentielles.
- **Muther. L.** Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant [thèse]. Univ Auvergne, Faculté de pharmacie de Clermont Ferrand, 2015.
- **Naghbi. F., Mosaddegh. M., Mohammadi. M.S., Ghorbani. A.** 2005. Labiate family in folk medicine in Iran : from Ethnobotany to pharmacology- Iranian Journal of pharmaceutical Research ; Vol 2.
- **Noumi. G.B., Yolande Mireille Njouokam. C.B., Njine. E., Ngameni & Kapseu.** 2011. Effets de séchage sur le rendement et la qualité de l'huile extrait de la pulpe de Safou. Ed TROPICULTURA, Cameron.

## Reference Bibliographie

- **Ouis. N.** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil [thèse]. Université d'Oran, 2015.
- **Patrick.L.** 1985. de la menthe en Seine-Maritime Chambre d'Agriculture de la Seine-Maritime. Service des affaires économiques. phototoxicity of lemon oil. Arch. Dermatol. Res. 278.
- **Sahraoui. N., Abchich. H., Melleli. M.** 2016 .Optimisation par plan d'expériences de l'extraction de l'huile essentielle du (Thymus pallescens). International Journal of Scientific Reserach and Engineering Technology pp 85-93
- **Silou. 1985.Dethier. 1996. in Mapola. 2003.selonBoukalfa. R.** 2013. Etude comparative des rendements en huile essentielle d'Artemesiaarborescens provenant de trois régions d'Algérie. 2eme Séminaire National d'Ethnobotanique et de Valorisation des Substances Naturelles, 6-7 juin 2020.
- **Snoussi.M., Noumi. E., Traelsi. N., Flamini. G., Papetti. A .et De FeoV.** 2015.
- **Stebbins. G.L.**1950. Variation and evolution in plants.OxfordUuniversityPress, London, UK.
- **Tuffey. S.** 2005. Data mining et statistique décisionnelle ; Edit Technip ; amazon France,
- **Vel'H.** Valorisation officine des huiles essentielles autorisées dans les phytomédicaments [thèse]. Université Angers, 2015.
- **YOUSSEF .E.N.** 1990.Dictionary of Médicinal plants, Librairie du Liban 160 p.
- **Zhao. D., Xu. W., Yanga. G., Husainib. A., Wua. W.,** 2012. Variation of essential oil of Mentha haplocalyxBriq and Mentha spicata L. from China, IndustrialCrops and Products 42
- **Zhiri. A.,Baudoux. D.,** 2016. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Edition Inspir Développement.

## Annexe I : matériel non biologique

### 1. Matériel utilisé pour l'extraction des huiles essentielles par Hydrodistillation type Clevenger :

- 1- Chauffe ballon.
- 2- ballon en verre pyrex.
- 3- potence.
- 4-robinet.
- 5-pince.
- 6 -Réfrigérant à reflux.
- 7- tuyau d'arrivée d'eau froid.
- 8- sortie d'eau sur évier.

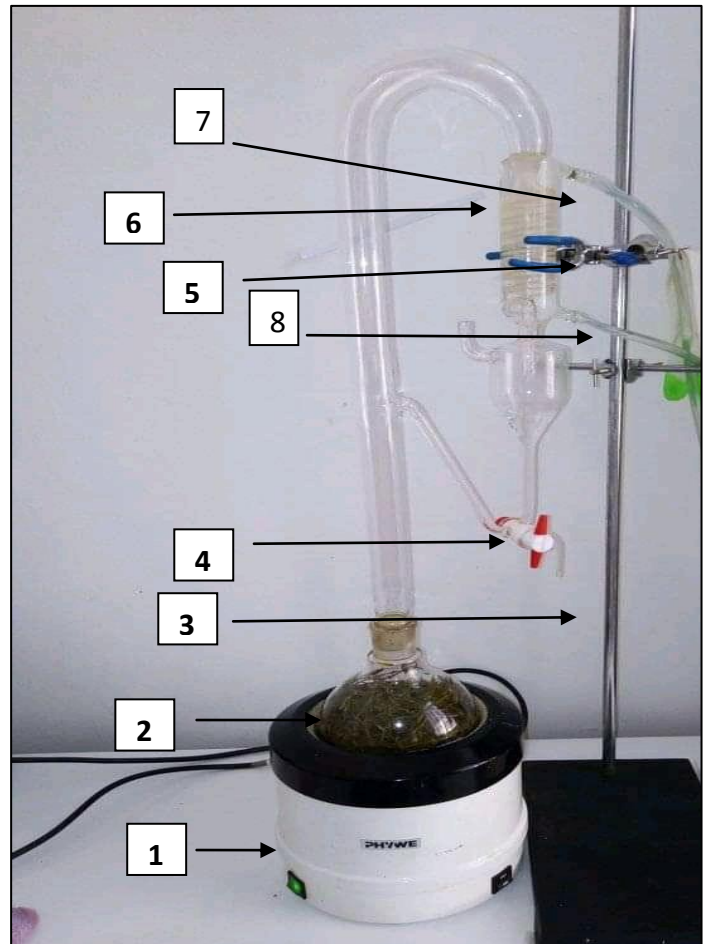


Figure 17 : dispositif d'extraction des HE par hydro distillation type Cl venger.

## **2. Matériel utilise pour l'activité antioxydant**

- Eprouvette.
- Tube à essais.
- Support Tube à essai.
- Micro Pipette réglable numérique.
- Cônes pour micro pipette.
- Rouleau d'aluminium.
- Papier absorbant.
- Crayon marqueur.
- Etiquettes.
- Spectrophotomètre.

## **3. Matériel utilise pour étudier le caractère des huiles essentielles**

- Balance analytique.
- Eppendorf.
- Micro Pipette réglable numérique.
- Cônes pour micro pipette.
- Papier absorbant.
- Réfractomètre.
- Ph mètre.

## **4. Les Réactifs utilisé**

- Méthanol.
- DPPH.
- L'eau distillée.
- Alcool.
- Vitamine C.

## Annexe II.

**Tableur 1** : Valeur des différents paramètres statistiques classique des caractères morphologique pour la 1ère population Chlef.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>
<b>N</b>	17	17	17	17	17	17	17
<b>Min</b>	5.5	14.8	11	0.5	1	1	1
<b>Max</b>	32.2	34.5	39	2.3	4.5	4.8	3.2
<b>Sum</b>	203,4688	412,675	414,375	24,06563	47,91875	46,9625	34,85
<b>Mean</b>	11,96875	24,275	24,375	1,415625	2,81875	2,7625	2,05
<b>Std. Error (Ecartypr)</b>	1,623466	1,465899	2,054183	0,133513	0,2304437	0,2531965	0,1306094
<b>Variance</b>	44,8059	36,53062	71,73438	0,3030371	0,9027734	1,089844	0,29
<b>Stand. dev</b>	6,693721	6,044057	8,469615	0,5504881	0,9501439	1,043956	0,5385165
<b>Médian</b>	10.9	24.9	23	1.415625	2.81875	2.7	2.05
<b>25 prcntil</b>	7.8	18.35	18	0.95	2.4	1.95	1.65
<b>75 prcntil</b>	14.3	28.9	32.5	1.95	3.3	3.35	2.35
<b>Skewness</b>	1,910264	- 0,135872	0,2550831	0,1403502	-0,2239213	0,467713	0,2884681
<b>Kurtosis</b>	4,477442	- 1,013618	-0,786091	-1,171344	0,03678183	0,03305975	0,3737154
<b>Geom. mean</b>	10,65537	23,52027	22,92478	1,306468	2,636174	2,569173	1,980731
<b>Coeff. var</b>	55,92665	24,89828	34,74714	38,88657	33,70799	37,79026	26,2691



**Tableur 2 :** Valeur des différents paramètres statistiques classique des caractères morphologique pour la 2eme populationBéchar.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>
<b>N</b>	17	17	17	17	17	17	17
<b>Min</b>	7.8	15.8	14	0.4	2.3	0.9	0.5
<b>Max</b>	20.7	28.9	30	17	4.9	13	1.9
<b>Sum</b>	257,6563	350,4125	353,8125	41,8625	53,975	48,025	21,0375
<b>Mean</b>	15,15625	20,6125	20,8125	2,4625	3,175	2,825	1,2375
<b>Std. Error (Ecartypr)</b>	1,018324	0,960425 6	1,176419	0,922069 1	0,159156 8	0,652174	0,106022 7
<b>Variance</b>	17,62871	15,68109	23,52734	14,45359	0,430625	7,230625	0,191093 8
<b>Stand. dev</b>	4,198656	3,959936	4,850499	3,801788	0,656220 2	2,688982	0,437142 7
<b>Median</b>	15,15625	19,9	20	1,7	3,175	2,2	1,1
<b>25 prcntil</b>	10,8	17,35	16,5	1	2,75	1,75	0,9
<b>75 prcntil</b>	19,15	23,3	25	2,05	3,35	2,8625	1,75
<b>Skewness</b>	-0,17466	0,853504	0,531843 6	3,922327	1,301689	3,781945	0,155333
<b>Kurtosis</b>	-1,37366	-0,144274	-0,746301	15,83496	2,056326	15,05274	-1,160387
<b>Geom. mean</b>	14,56419	20,27841	20,29962	1,618733	3,117717	2,335165	1,160387
<b>Coeff. var</b>	27,70247	19,21133	23,3057	98,3873	20,66835	95,18521	35,32466

**Tableur 3** : Valeur des différents paramètres statistiques classique des caractères morphologique pour L'ensemble des populations.

	A	B	C	D	E	F	G
<b>N</b>	34	34	34	34	34	34	34
<b>Min</b>	5.5	14.8	11	0.4	1	0.9	0.5
<b>Max</b>	2.32	34,5	39	17	4,9	13	3,2
<b>Sum</b>	461,125	763,0875	768,1875	65,92813	101,8938	94,9875	55,8875
<b>Mean</b>	13,5625	22,44375	22,59375	1,939062	2,996875	2,79375	1,64375
<b>Std. Error (Ecartypr)</b>	0,983516 1	0,919876 4	1,206069	0,467692 1	0,141336 7	0,344501 9	0,1089114
<b>Variance</b>	32,88834	28,76987	49,4565	7,43702	0,679186 2	4,035173	0,4032978
<b>Stand. dev</b>	5,734835	5,363755	7,032531	2,72709	0,824127 5	2,008774	0,6350573
<b>Median</b>	12,65	21,35	21,40625	1,5	3	2,45	1,7
<b>25 prcntil</b>	8,7	17,425	17	0,975	2,65	1,875	1,075
<b>75 prcntil</b>	18,125	27,175	26,5	2	3,3	3,05	2,0625
<b>Skewness</b>	0,994669 6	0,450125 5	0,663416 8	5,395375	- 0,089473 3	4,189901	0,3454385
<b>Kurtosis</b>	1,741983	-0,797515	-0,042185	30,53853	0,994992 1	21,08089	-0,165380
<b>Geom. mean</b>	12,4574	21,83927	21,5723	1,454243	2,866852	2,449376	1,516052
<b>Coeff. var</b>	42,2845	23,89866	31,126	100.000	27,49956	71,90242	38,634 67

**Tableur 4:** Pourcentage de variance des differntsaxes de l'ACP

<b>PC</b>	<b>Eigenvalue</b>	<b>% variance</b>
<b>1</b>	68.2843	55.215
<b>2</b>	32.8605	26.571
<b>3</b>	11.0926	8.9696
<b>4</b>	6.85101	5.5398
<b>5</b>	3.84714	3.1108
<b>6</b>	0.470316	0.3803
<b>7</b>	0.263543	0.2131

**Annexe III :**

**Tableur 1 :** Résulta d'Indice d'inhibition

	200		400		600		800		1000	
	DO	I%	DO	I%	DO	I%	DO	I%	DO	I%
HE Chlef	0.390	80.273	0.171	91.16	0.055	97.21	0.321	83.75	0.289	85.36
HE Béchar	0.356	81.992	0.087	95.599	0.602	69.549	0.322	83.71	0.221	88.78
Vitamine C	1.07	48.75	1.044	47.19	1.002	49.31	0.879	55.53	0.12	93.82

**Tableur 2 :** Résulta d'IC 50 %

	HE chlef	HE Béchar	Vit C
IC 50 %	137.7883	170.3476	511.3409