



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur de la

Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb - Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie



Mémoire de fin d'Etude

En vue de l'obtention du diplôme de **Master** en Science de la Nature et de la vie

Spécialité: Biotechnologie et Valorisation des plantes

Thème :

Evaluation de l'activité antioxydante des
extraits de la menthe : *Mentha rotundifolia*

Présenté par :

Soutenue le : 16/09/2020

Leroul Nour.elhouda

Baouche Houda

Devant le jury composé de :

Mr Bendali A	MAA	USDB	President
M ^{me} Kadri F	MCB	USDB	Promotrice
M ^{me} Ghanai R	MAA	USDB	Co-promotrice
Mr Abbad.M	MCA	USDB	Examineur

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions « ALLAH » le Tout Puissant, le Clément, le Miséricordieux, qui nous a facilité de réaliser ce modeste travail, qui nous a ouvert les portes du savoir, qui nous a donné la patience et la force et la volonté de poursuivre nos études.

Mes remerciements les plus profonds vont à ma promotrice Mme Kadri et Copromotrice Mme Ghanai, qui nous devons beaucoup d'estimation et de respect pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce travail et leur grande disponibilité à mon égard ainsi que ses judicieux conseils.

M. Abbad, C'est un plaisir pour nous d'accepter d'examiner notre travail, nous n'oublierons jamais votre disponibilité, vous trouverez nos remerciements les plus profonds.

Nous remercierons : M. Bendali d'être le président de membre de juré notre mémoire.

On remercie également les membres du laboratoire de recherche des plantes médicinales et aromatique de l'université de Blida pour aide précieuse.

Un grand merci à tous les enseignants de la faculté des sciences de la nature et de la vie, et du département de la biotechnologie de l'université Saad Dahleb de Blida-1 qui ont contribué à notre formation.

Dédicace



Louange à ALLAH, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce modeste travail.

On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris cespetits mots.

C'est avec un très grand honneur que je dédie ce travail aux personnes les plus chères au monde

Mes très chers parents

Qui m'ont offert leur amours et leur soutient et qui n'ont cessé de m'encourager et m'enseigner persévérance durant toute mes années d'études.

À ma jumelleGhozlaneetmon frère AbdErzak

Qui me font oublier tous mes soucis avec leurs douces paroles et leur charmant sourire enfantin. Merci pour votre amour sans limite.

À toute la Famille Leroulet Laoues

Spéciale dédicace à toutes mes amies :Mouni,Yassmine et Meriem

A ma binette Houda avec qui j'ai partagé les bons etles durs moments.

A tout la promotion de 2019/2020 de biotechnologie et valorisation des plantes

Tous mes professeurs de l'université, et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à L'élaboration de ce mémoire.

Nour.Elhouda

Dédicace



A mon cher père Allah, pour tous leurs sacrifices

Leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur prières tout

Au long de mes études Que dieu me la garde.

Ma très chère maman Hamida, Aucune expression, aussi élaborée qu'elle soit, ne pourrait traduire ma profonde gratitude et ma reconnaissance pour toutes ces années de sacrifices et de dévouements surtout celles de mes études. Ta patience, ton grand amour, ton soutien et tes encouragements sont et seraient pour toujours les secrets de ma réussite.

A mes chères sœurs et mes chers frères Fadhila, Abla, Hanane, Ghanai, Hocine, Rabah, Toufik, Ahmed et Oussama, qui je souhaite beaucoup de succès dans leur vie.

A toi chère binôme nourelhouda, pour le respect et la gentilles infinie.

A vous chères amies Sara, Rahma, Imen, Faiza, Roumaissa

A toute la promotion de 2019/2020 de biotechnologie et valorisation des plantes

Tous mes professeurs de l'université, et à toute personne ayant contribué de près ou de loin à

Houda

Résumé

L'espèce de *Mentha rotundifolia* est largement utilisée par des habitats de la région de bouinane (Blida) comme des herbes et aromate dans le traitement des maladies. L'objectif de cette étude est évalué de, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique obtenue par macération et l'huile essentielle extraite par hydrodistillation, de la partie arienne de l'espèce.

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des flavonoides, des tanins, des tanins galliques, des alcaloïdes et des mucilages et l'absence des tanins catéchique, des anthocyaness et des glucosides.

Le dosage des composés phénoliques a montré une richesse en polyphénols et en flavonoides de l'extrait méthanolique .

L'analyse par CG/MS a permis d'identifier plus de 30 composés et deux chémotypes de l'espèce récoltée dans l'Afrique du Nord, un chémotype à pulégone (85.5%) en Maroc et chémotype à l'oxyde de pipéritone (46,06%) en Algérie.

L'évaluation de l'activité antioxydant des extraits de *Mentha rotundifolia* réalisée par différents tests: Test des piégeages des radicaux DPPH, test du blanchissement du β -carotène/acide linoléique), test de pouvoir réducteur (FRAP) et le test ABTS, l'activité la plus élevée a été observée avec l'extrait alcoolique (méthanolique et éthanolique) avec des valeurs de $IC_{50} = 0.0585 \pm 0.0003$ mg/ml, $IC_{50} = 0.763 \pm 0.0007$ mg/ml, $IC_{50} = 0.550 \pm 0,03613$ mg/ml et $IC_{50} = 0.1589 \pm 0,0282$ mg/ml. respectivement. Cependant, le teste de chélation des métaux, l'activité la plus élevé a été observée dans l'huile essentielle ($IC_{50} = 3,3 \pm 0,4$ mg/g).

Ces résultats suggèrent que la richesse de l'extrait méthanolique en composés phénoliques a offert a *mentha rotundifolia* une activité antioxydante intéressent.

Mots clés : *Mentha rotundifolia*, huile essentielle, extrait méthanolique, polyphénols, flavanoides, antioxydant

Abstract

The species of *Mentha rotundifolia* is widely used as herbs and aromatic in folk medicine in bouinane région (Blida). The objective of this study is evaluated, the antioxidant activity of the methanolic extract obtained by maceration and the essential oil extracted by hydrodistillation, of the arienne part of the species.

The phytochemical screening allowed to highlight the presence of flavonoids, tannins, gallic tannins, alkaloids and mucilages and the absence of catechic tannins, anthocyanins and glucosides.

The dosage of the phenolic compounds showed a richness in polyphénols and in flavonoids of the methanolic extract.

Analysis by GC / MS made it possible to identify more than 30 compounds and two chemotypes of the species collected in North Africa, a poglobone chemotype (85.5%) in Morocco and piperitone oxide chemotype(46.06%) in Algeria .

Evaluation of the antioxidant activity of *Mentha rotundifolia* extracts carried out by deferent tests: DPPH radical scavenging test, β -carotene / linoleic acid bleaching test, Reducing power test (FRAP) et ABTS test, The highest activity was observed in the alcoholic extract (Méthanolic and éthanolic) with values $IC_{50} = 0.0585 \pm 0.0003$ mg / ml, $IC_{50} = 0.763 \pm 0.0007$ mg / ml, $IC_{50} = 0.550 \pm 0,03613$ mg / ml and $0.1589 \pm 0,0282$ mg/ml respectively. However, the metal chelation test, the highest activity was observed in the essential oil ($IC_{50} = 3.3 \pm 0.4$ mg / ml).

These results suggest that the richness of the methanolic extract in phenolic compounds gave *mentha rotundifolia* interesting antioxydant activity.

Key words : *Mentha rotundifolia* , essential oil , menthanolic extract, polythenols, favonoids, antioxidant.

الملخص

تستخدم أنواع *Mentha rotundifolia* على نطاق واسع في موائل منطقة بوينان (البليدة) كأعشاب و عطريات في علاج الأمراض. تهدف هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي الناتج عن النقع و الزيت الأساسي المستخرج بالتقطير المائي للجزء العلوي من النوع .

مكن الفحص الكيميائي النباتي من إبراز وجود مركبات الفلافونويد والعفص الغالي والكلويدات و الصمغ و غياب العفص الكاتيني و الانثوسيانين و الجلوكوسيدات.

أظهر تقدير المركبات الفينولية ثراء في البوليفينول و الفلافونويد للمستخلص الميثانولي.

سمح تحليل الزيت الأساسي بواسطة CG/MS من تحديد أكثر من 30 مركبا ونوعين كيميائيين , البوليجون (85.5%) في المغرب والنمط الكميائي اكسيد البيبيريتون (46.06%) في الجزائر.

تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلصات *mentha rotundifolia* بواسطة إختبارات مختلفة : الكسح الجذري DPPH , إختبار التبييض البيتا كاروتين / حمض اللينوليك, اختبار القدرة (FRAP) و اختبار ABTS لوحظ أعلى فعالية عند المستخلص الكحولي (الميثانولي والايثانولي) بقيم $IC_{50}=0.0585\pm 0.0003$ مغ/مل, $IC_{50}=0.763\pm 0.0007$ مغ/ل , $IC_{50}=0.550\pm 0.03613$ مغ/مل, $IC_{50}=0.1589\pm 0.0282$ مغ/مل على التوالي. ومع ذلك, فان اختبار ازاله المعدن الثقيل, لوحظ أعلى نشاط في الزيت الأساسي ($IC_{50}=3.3\pm 0.4$ مغ/مل). تشير هذه النتائج إلي أن ثراء المستخلص الميثانولي بالمركبات الفينولية أعطى نشاطا مثيرا للاهتمام لمضادات الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: *mentha rotundifolia*, الزيت الأساسي, مستخلص الميثانول, البوليفينول, فلافونويد, أكسدة .

Liste des figures

Figure 01 : Cinq espèces les plus répandues du genre <i>Mentha</i> en Algérie (Brahmi et al., 2017).....	4
Figure 02 : <i>Mentha rotundifolia</i>	5
Figure 03 : Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygènes (Alfonso et al., 2009).....	11
Figure 04 : Principales cibles des ERO (Favier, 2003).....	12
Figure 05 : Les Antioxydants Synthétiques.....	15
Figure 06 : Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).....	16
Figure 07 : <i>Mentha rotundifolia</i> avant floraison février 2020.....	18
Figure 08 : Présentation géographique de la station de récolte de Bouinan.....	18
Figure 09 : Echantillon de plante et poudre sèche de <i>Mentha rotundifolia</i> (Original, 2020)..	19
Figure 10 : Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.....	20
Figure 11 : forme libre et réduit du DPPH (Razafindrakoto ,2010).....	25
Figure 12 : l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de <i>Mentha rotundifolia</i> (Photo originale).....	32
Figure 13 : Screening phytochimique des extraits de <i>Mentha rotundifolia</i>	33

Liste des tableaux

Tableau 01 : Principaux métabolites secondaires isolés à partir de <i>Mentha rotundifolia</i>	6
Tableau 02 : Principales espèces réactive de l'oxygène (ROS) et de l'azote (NOS) produite par me métabolisme tissulaire et cellulaire (Huet et Duranteau, 2008).....	10
Tableau 03 : les différentes équations d'antioxydants endogène.....	14
Tableau 04 : Les différentes concentrations des extraits testées pour la méthode du piégeage du radicale libre DPPH.....	26
Tableau 05 :Les concentrations des extraits (a et b) et leurs additifs en méthanol et solution DPPH.....	27
Tableau 06 : Rendement en pourcentage des différents extraits.....	31
Tableau 07 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de <i>Mentha rotundifolia</i>	32
Tableau 08 : Résultats du screening phytochimique de <i>Mentha rotundifolia</i>	33
Tableau 09 : Teneur totale en phénols et flavonoides des extraits de <i>M. rotundifolia</i> de différentes régions.....	35
Tableau 10 : Composition chimique de HE MR (El Arch et <i>al.</i> , 2003).....	38
Tableau 11 : Composition chimique HE de (Aouadi et <i>al.</i> , 2020).....	38
Tableau 12 : Comparaison des IC50 des différents résultats (méthode DPPH) des mêmes espèces (<i>M. rotundifolia</i>).....	40
Tableau 13 : Activité antioxydant des HE de <i>M. rotundifolia</i> pour des différentes régions (méthode DPPH).....	41
Tableau 14 : Comparaison des IC50 de la méthode de blanchiment de β -carotène de l'extrait méthanolique de <i>Mentha rotundifolia</i> de différentes régions.....	42
Tableau 15 : Comparaison des IC50 (méthode chélation de fer) de l'extrait méthanolique de <i>Mentha rotundifolia</i> de différentes régions.....	43
Tableau16 : comparaison des IC50 (méthode chélation de fer) de l'huile essentiel de <i>Mentha rotundifolia</i>	44
Tableau 17 : Résultats du test du pouvoir réducteur FRAP par déférents extraits.....	45
Tableau 18 : Les résultats du Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS» par l'extrait éthanolique.....	46

Liste des abréviations

Abs_c : Absorbance du blanc (de la réaction de témoin ou contrôle)

Abs_e : Absorbance de l'échantillon testé (composé d'essai)

ABTS: Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox.

APR: pouvoir radicalaire.

A_t : les valeurs d'absorbance mesurées pour échantillon à tester.

BHA : butylhydroxyanisole.

BHT: butylhydroxytoluène.

CAT : Catalase.

C_t : les valeurs d'absorbance mesurées pour échantillon à contrôler.

Cu-SOD : cuivre superoxyde dismutase.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DPPH-H : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazine.

EC-SOD : Extrat cellulaire superoxyde dismutase.

EDTA: Ethylene diamine tetraacetic acid.

ERO : Espèces Reactives de l'Oxygène

Fer (III) : fer ferrique.

Fer(II) : fer ferreux.

FRAP: Ferric reducing antioxydant power.

GAE: équivalents d'acide gallique (Gallic Acid Equivalent).

GC-MS: Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse.

GPx : glutathion peroxydase.

GR : Glutathion réductase.

GSH : Glutathion réduit.

GSSG : Glutathion disulfure .

HE : Huile essentielle.

IC50: Concentration inhibitrice 50 %.

IK : indice de Kovàts.

IR : indice de rétention.

M. rotundifolia : Mentha rotundifolia .

Mn-SOD : Manganase superoxyde dismutase.

MP : *M. pulegium* .

MR: *M. rotundifolia*.

MS : *M.spicata* .

NADPH : Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

nm : nanomètre.

NO : Oxyde Nitrique.

NOS : Espèces Réactives d'Azote .

OMS : Organisation mondiale de la santé .

PG : gallate propylée.

PH: potentiel d'hydrogène.

QE : équivalents de quercitine.

RE : Rutine Equivalent.

RCS : Reactive Chlorine épéce.

RH : Rendement des huiles essentielles en (ml) par rapport à 100g de matière sèche (%).

ROO[•] : Radical pyroxyle.

ROS : Espèce Reactive de l'oxygène .

SOD : superoxyde dismutase.

β-carotène : beta-caroténe.

TBHQ : tetrabutylhydroquinone.

V : volume d'huile essentielle en (ml).

vitamine C : acide ascorbique .

vitamine E : α-tocophérol .

XO : Xanthine Oxydase.

Zn-SOD : Zinc superoxyde dismutase.

MeOH : méthanol ou méthanolique.

Sommaire

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	

Introduction

Introduction.....	1
-------------------	---

Chapitre 01 : Synthèse bibliographique

1. Présentation de la plante.....	3
1.1. La famille des Lamiaceae.....	3
1.2. Le genre <i>Mentha</i>	3
1.3. <i>Mentha rotundifolia</i>	4
1.3.1. Description botanique.....	4
1.3.2. Systématique de la plante.....	5
1.3.3. Nomenclature.....	5
1.3.4. Localisation.....	6
1.3.5. Propriétés et emplois.....	6
1.3.6. Principaux métabolites secondaires isolés à partir de <i>Mentha rotundifolia</i>	6
1.3.7. Activités biologiques des extraits et de l'huile essentielle de <i>M. rotundifolia</i>	8
2. Activité antioxydante.....	9
2.1. Le stress Oxydant.....	9
2.2. Les radicaux libres.....	10
2.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène(ROS).....	10
2.4. Conséquences du stress oxydatif.....	11
2.5. Les antioxydants.....	12
2.5.1 Mécanismes d'action des antioxydants.....	12
2.5.2 Classification.....	13
2.5.3. Utilisation des antioxydants.....	15
2.6. Technique d'évaluation de l'activité antioxydant.....	16
2.6.1 Test de piégeage du DPPH.....	16
2.6.2. Test du blanchissement du β -carotène.....	17
2.6.3 Test de réduction du fer FRAP (Ferric reducing – antioxidant power).....	17

Chapitre 02 : Matériel et méthodes

1. Matériel.....	18
1.1 Matériel végétal.....	18
1.2. Localité de récolte.....	18
1.3. Matériel non biologique.....	19
2. Méthodes.....	19
2.1 Séchage et broyage.....	19
2.2. Extraction de l'huile essentielle.....	20
2.3. Préparation des extraits méthanolique.....	21
2.4. Préparation des extraits aqueux.....	22
2.5. Test du screening phytochimique.....	22
2.5.1 Préparation de l'infusé.....	22
2.5.2 Identification de quelques métabolites secondaire.....	22
2.6. Dosage de polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.....	23
2.6.1. Détermination de la teneur phénolique total (Boussouf et al., 2017).....	23
2.6.2 .Détermination de la teneur totale de flavonoides (Boussouf et al., 2017).....	24
2.7. Analyse chromatographie des huiles essentielles (El Arch et al., 2003).....	24
2.7.1. Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS).....	24
2.8. Evaluation du L'activité antioxydant des extraits de <i>Mentha rotundifolia</i>	25
2.8.1. Test de piégeage du radicale libre DPPH (Bentoura., 2015).....	25
2.8.2. Test de blanchissement du β- carotène/acide linoléique (Benabdallah et al.,2016).....	28
2.8.3. Test de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe ⁺²) (Lablate ., 2018).....	29
2.8.4. Test de pouvoir réducteur FRAP (Ferric reducing antioxydant power) (Ferdjoui , 2014).....	29
2.8.5. Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS» (Nickavar et al., 2008)	30

Chapitre 03 : Résultats et discussion

1. Rendements des différents extraits.....	31
1.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles.....	32
2. Test du screening phytochimique.....	33
3. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoides (Boussouf et al., 2017).....	34
4. Composition chimique de l'huile essentielle.....	37
5. Activité antioxydante..... ;.....	39

5.1. Test du piégeage des radicaux DPPH (Bentoura, 2015).....	39
5.2. Test du blanchissement du β -carotène/acide linoléique (Benabbdallah et al., 2016).....	42
5.3. Activité de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe ²⁺) (Lablata et al., 2018).....	43
5.4. Test de pouvoir réducteur FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (Ferdjioui ., 2014)..	44
5.5. Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS».....	46
6. Discussion générale.....	47

Conclusion

Conclusion.....	50
Références bibliographiques.....	52
Annexes	

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité comme remèdes pour le traitement de diverses maladies parce qu'elles contiennent des composants riches en principes thérapeutiques (**khaldi et al., 2012**). Selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80% de populations dépendent de la médecine traditionnelle. La plupart des plantes sont utilisées empiriquement et sans validation scientifique de leur efficacité et sécurité (**Moutinho, 2013**).

Une plante aromatique se différencie des autres plantes par ces principes odoriférants et parfumés appelés huiles essentielles (**Willem, 2005**), elles sont utilisées comme tous les végétaux en médecine, en parfumerie, en cosmétologie et pour l'aromatisation culinaire.

Les plantes synthétisent de nombreux composés appelés métabolites primaires qui sont indispensables à leur existence. Ceux-ci englobent les protéines, les lipides et les hydrates de carbone qui servent à la subsistance et à la reproduction, non seulement de la plante elle-même mais encore des animaux qui s'en nourrissent. De plus, les plantes synthétisent une gamme extraordinaire d'autres composés appelés métabolites secondaires dont la fonction est loin de faire l'unanimité (**Yifan, 2010**). Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les terpénoïdes, et les stéroïdes (**Benyad, 2008**).

La recherche de ces dernières décennies a montré que de nombreuses pathologies humaines sont causées ou favorisées par le stress oxydant (**Berger, 2006**) ; déséquilibre entre les systèmes producteurs d'espèces radicalaires oxydantes et les systèmes de défense antioxydant (**Bonnefont-rousset et al., 2002**). Ce phénomène cellulaire est la cause principale de plusieurs maladies telles que : le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes, le cancer et les maladies cardiovasculaires (**Favier et al., 2003**).

La recherche d'antioxydants naturels comme source alternatives aux antioxydants de synthèse a émergé et l'exploitation des différents métabolites secondaires de la plante a été mise en évidence. Ces substances sont capables de réduire les radicaux libres comme le superoxyde, peroxyde, l'alcoolate et hydroxyle (**Benhamou et al., 2008**).

Les espèces de *Mentha* occupent une place privilégiée dans la phytothérapie. Elles étaient cultivées depuis l'antiquité pour leurs propriétés médicinales, puis utilisées comme source mondiale d'extraits à fort pouvoir antibactérien et antioxydant, Il y'a peu de travaux sur la caractérisation des métabolites secondaires et des activités biologiques de *Mentha rotundifolia* notamment l'activité antioxydante.

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés dans la présente étude à évaluer l'activité antioxydante des extraits de cette plante aromatique *Mentha rotundifolia*.

Les objectifs de la présente étude sont :

- ❖ Etude phytochimique de *mentha rotundifolia*.
- ❖ Analyse des extraits de *mentha rotundifolia*.
- ❖ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *mentha rotundifolia* selon différents méthodes : DPPH, blanchissement du β -carotène, réduction du fer. Cette dernière méthode de travail a été étudiée théoriquement en analysant des résultats obtenus par cinq auteurs (**Bentoura, 2015; Benabdallah et al., 2016; Lablate, 2018 ; Ferdjoui, 2014 ; Nickavar et al., 2008**).

Chapitre 01 : synthèse bibliographique

1. Présentation de la plante

1.1. La famille des Lamiaceae

Les lamiacées anciennement appelée Labiées, est l'une des familles les plus vaste dans le règne végétale. Elles constituent l'une des principales familles de plantes dicotylédones. elle comprend approximativement 240 genre et 7200 espèce (**Harley et al., 2010**). Plus ou moins cosmopolites, mais particulièrement répandues depuis le Bassin méditerranéen jusqu'en Asie centrale (**Botineau, 2010**).

Les espèces de cette famille sont souvent des plantes herbacées, ou sous-arbrisseaux à poils glanduleux, en générale aromatique. Leur tiges sont carrées, certaines espèces sont dressées, d'autre couchées portes des feuilles opposées ou verticilles. Les fleurs bisexués, irrégulières, groupées à l'aisselle des feuilles en inflorescences plus ou moins allongées ou en inflorescences terminale plus ou moins denses, à calice tubuleux ou en cloche persistant, les corolles sont généralement caduque et à 2 lèvres (rarement 1). Le fruit se séparant en quatre articles contenant chacun une graine (**Guignard, 1979**).

La famille des Lamiaceae est d'une grande importance aussi bien pour son utilisation en industrie alimentaire et en parfumerie qu'en thérapeutique. Elle est l'une des familles les plus utilisées comme source mondiale d'épices et d'extraits à fort pouvoir antibactérien, antifongique, anti-inflammatoire et antioxydant. Les huiles essentielles extraites des plantes de cette famille ont particulièrement connues pour leur propriétés pharmacologiques tant sur le plan humain qu'industriel. De nombreuses propriétés leurs sont conférées: anti-infectieuses, antispasmodiques, antalgiques, toniques, digestives et cicatrisantes (**Hilan et al., 2006**).

1.2. Le genre *Mentha*

Les Menthes, du nom latin *Mentha*, sont des plantes vivaces, herbacées indigènes, appartenant à la famille des lamiacées. Elles sont vigoureuses et leurs racines souterraines sont envahissantes, gênant les plantes aromatiques voisines. Les espèces de menthes s'hybrident très facilement d'où l'existence de nombreuses variétés.

Ce sont des plantes peu exigeantes et se répandent rapidement quand elles sont dans un sol sableux, humifère et frais, et peuvent former des aromatiques très décoratifs. Au soleil, elle charmeront également tous les insectes butineurs (**Page et al., 1990**).

Les Menthes ne dépassent pas 1m, à tiges quadrangulaires, à feuilles pétiolées ou sessiles, arrondies ou ovales, plus ou moins dentées, à fleurs presque régulières mauve, rose ou blanches.

Les quatre parties des fruits sont ovoïdes, parfois verruqueuses, l'odeur est forte et agréable, plus ou moins fine, à tige fortifiées terminées par les fleurs inflorescences en tête arrondie (Beauquesne et al., 1980). On présente les cinq espèces les plus répandues du genre *Mentha* dans la Figure (01).



M. aquatica *M. longifolia* *M. spicata* *M. rotundifolia* *M. arvensis*
(Water min) (Horse mint) (Spearmint) (Apple mint) (Japanese mint)

Figure 01: Cinq espèces les plus répandues du genre *Mentha* en Algérie (Brahmi et al., 2017)

1.3. *Mentha rotundifolia*

Ce sont des plantes aromatique très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et en parfumerie (Brada et al., 2007). *Mentha rotundifolia*, dont le nom vernaculaire est « Timarssat » en langue arabe, est un hybride de *Mentha Longifolia* et de *Mentha suaveolens* (Kokkini, Papageorgiou, 1988 ; Lorenzo et al., 2002). Selon d'autres auteurs (Hendriks, Van Os, 1976). *Mentha rotundifolia* (Menthe à feuilles rondes) et *mentha suaveolens* Ehrch (Menthe odorante) correspondent à la même espèce.

1.3.1. Description botanique

M. rotundifolia est une herbe vivace de 25 à 80 cm de hauteur. Les feuilles sont distinctement pédonculées, ovales, obtuses, moins deux fois plus longue que larges et ridées en réseau. Les fleurs sont en épis cylindrique terminaux non feuillés. Calice tubuleux ou en cloche à 5(4) dents subégales. Corolle infundibuliforme blanche, rosée ou violet pâle à 4 lobes subégaux.

L'ensemble de la plante est couvert de poils denses et blanchâtres qui la rendent douce au toucher. Comme toutes les menthes, elle dégage une forte odeur caractéristique qui chez cette plante rappelle la pomme (Figure 02) (Quezel et Santa, 1963; Benayad, 2008) (Figure 02).



Figure 02: *Mentha rotundifolia*

1.3.2. Systématique de la plante

Mentha rotundifolia est classée selon **Iserine et al., 1997** comme suit :

- Embranchement : Spermatophytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe : Dicotylédones
- Sous Classe : Gamopétales
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Mentha*
- Espèce : *Mentha rotundifolia* (**Linné, 1762**)

1.3.3. Nomenclature

En Algérie diverses appellations lui sont attribuées telles que : Timersitt, Timersad sa prononciation diffère légèrement d'une région à une autre.

- Dans les Aurès on attribue au nom scientifique *Mentha rotundifolia*. Le nom chawi de Temersout.
- Dans la Région berbère on lui attribue le nom Morsot (**Doutté et Huyghe, 1913**).
- Elle est également signalée comme : Himersad selon **Le père. Huyghe (1907)**. timersudt (**Ounissi, 2003**).
- Dans d'autres pays On retrouve d'après **Benchabane (1991)** :
 - Français : Menthe à feuilles ronde, Menthe crépue, Menthe odorante.
 - Allemand : Apfelminze, Bastardrossminze, Bowles Apfelminze, Runde Minze.
 - Anglais : Apple mint, Roundes-leaved mint.
 - Espagnole : herbe buena de burro. Maroc : timidja, l'mersita.

1.3.4. Localisation

Mentha rotundifolia croit dans les zones humides près des cours d'eau en basse et moyenne montagne (El Arch et al., 2003). Elle existe en Europe, et l'Afrique du Nord, dans toute la méditerranée sauf en Chypre, en Grande Bretagne et en Autriche (Page et al., 1990 ; Beauquesne et al., 1980).

1.3.5. Propriétés et emplois

Le *Mentha rotundifolia* possède des effets sédatifs, myorelaxants, anticonvulsivants et non toxique aux doses thérapeutiques (Hadouche, 2011).

Dans la pharmacopée traditionnelle, elle est utilisée comme analgésique en infusion et compression comme antiseptique en infusion des voies respiratoire et digestive (en infusion) et bactéricides pour purifier l'eau. Elle est utilisée contre la grippe et le rhume, la nausée, les maux de dents, les piqûres d'insectes (Brada, 2007).

En Algérie les feuilles et tiges sont consommées généralement en décoction par voie orale contre les troubles et les coliques digestives, contre le vertige et le refroidissement et les feuilles séchées sont employées comme laxatif (Hadouche, 2011).

1.3.6. Principaux métabolites secondaires isolés à partir de *Mentha rotundifolia*

Plusieurs travaux ont montré que cette plante (*Mentha rotundifolia*) est riche en huile essentielle. Plus de neuf chimotypes différents ont été identifiés (Tableau 01). Cependant on a remarqué que les constitués majoritaires dans la pluparts sont les monoterpènes oxygénés.

Des composés phénoliques de *Mentha rotundifolia* sont des acides phénoliques tels que coumarique, rosamarinique, caféique et des flavonoides (Apigénine, Luteoline) (Tableau 01).

Tableau 01 : Principaux métabolites secondaires isolés à partir de *Mentha rotundifolia*

Classe		Composés identifier	Référence
Polyphénols	Acides phénoliques	- Acide coumarique - Acide rosamarinique - Acide caféique	Brahmi et al., 2017
	Flavonoides	- Apigénine, Luteoline	

Huile essentielle	- Le pulégone (50%) au Maroc	Ouzmil et al., 2002
	- Le carvone (62.3%) en Finlande	Galambosi et al., 1998
	-Lacis-dihydrocarvone (43.2%)	Lawrence, 2007
	- Le menthol (48.3%) en Argentine	De la Torre, Torres, 1977
	- Le pipéritol (57.6%) en Espagne	Perez et al., 1990
	- Le néoiso-isopulégol(52.3%) Au Japon	Bezzaz, 2014
	- L'oxyde de pipériténone (87.3%) Au Japon, 46.06% en Algérie	Bezzaz, 2014 Aouadi et al., 2020 (Algérie)
	- L'oxyde de trans-pipériténone En Italie	Avato et al., 1995
- L'oxyde de pipériténone en Grèce et en Allemagne	Kokkini et Papageorgiou, 1988.	

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes des constituants. Elles contiennent 20 à 60 composantes avec des concentrations différentes et sont caractérisées, généralement, par deux ou trois composants majoritaires représentant 20 à 70% de l'huile essentielle totale, alors que les autres composés se trouvent sous forme des traces. Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux principaux groupes : les terpènes et les composés aromatiques **(Bakkali et al., 2008)**.

La composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* est très variable Néanmoins, la synthèse bibliographique montre que dans la plupart des cas.

1.3.7. Activités biologiques des extraits et de l'huile essentielle de *M.rotundifolia*

El Arhe et al. (2003) ont étudié l'activité antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* poussant au Maroc. La sensibilité des bactéries (*Echerichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*), des champignons (*Tramette pini*, *Aspergillus niger*, *Penicilium parasiticus*) et des insectes des céréales stockées (*Rhizopertha dominica* et *Sitophilus oryzae*) vis-à-vis de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* différentes concentration.

Selon **Clemente et al. (2003)**, l'extrait dichlorométhanique de *M.rotundifolia* Huds avéré être plus efficace causant une mortalité de 74% tandis que les infusions ont causé seulement 19% de mortalité larvaire.

Selon **brada et al. (2007)**, *Mentha rotundifolia* riche en oxyde pipériténone, un monoterpène oxygéné possède des effets biologiques très intéressants. Il présent des effets cardiovasculaires (Activité hypotensive, vasodilatateur, bradycardie), une Activité sur les centre nerveux sympathiques (relaxant, stimulant, dépressant), des propriétés antibactériennes et antifongique, et agit aussi comme agent retardant la reproduction du vecteur de malaria Anophèles stephensis (**Damien Dorman et al., 2003 ; Tripathi et al., 2004**).

Derwiche et al. (2010) ont mené un test in vitro l'effet antimicrobien de l'huile essentielle des feuilles de *M.rotundifolia* cultivée au Maroc sur neuf souches bactériennes. L'huile essentielle extraite a montré la plus haute activité contre *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* avec la plus forte zone d'inhibition 45,34 et 31mm, respectivement.

Le travail de **Moldovan et al. (2014)** a fait l'objet d'évaluer l'activité antioxydante des composés phénoliques de *M.rotundifolia* poussant en Roumanie. Ces extraits ont montré une activité antioxydante et antimicrobienne importantes. Ces résultats pourraient être importants pour la valorisation thérapeutique de l'espèce comme agent antioxydant ou antimicrobienne.

Seladji et al. (2014) ont déterminé l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'extrait méthanolique et aqueux des tiges et des feuilles de *M.rotundifolia* d'Algérie.

Elhartiti et al. (2015) ont réalisé une étude pour l'isolement, la purification et l'identification des bactéries endophytes qui produisent des substances antifongiques à partir des racines de *M.rotundifolia*.

La recherche de **Bounihi (2016)** a été consacrée à l'étude toxicologique des extraits aqueux et l'huile essentielle de *M. rotundifolia* qui a permis la détermination de leurs doses létales 50 chez les souris. La toxicité chronique a pour objectif de mettre en évidence les altérations fonctionnelles et ou anatomo-pathologiques consécutives aux administrations répétées (pendant 90 jour) des extraits.

La détermination du profil pharmacologique des extraits (l'activité sédatrice, anti-inflammatoire et analgésique in vivo et l'activité antioxydante et antibactérienne in vitro) a démontré que les différents extraits testés (aqueux et HE) possèdent des propriétés anti-inflammatoire et analgésique intéressantes.

2. Activité antioxydante

Parmi les activités biologiques des plantes médicinales, ces dernières années l'attention s'est portée sur l'activité antioxydante en raison du rôle qu'elle joue dans la prévention des maladies chroniques telles que les pathologies du cœur, le cancer, le diabète, l'hypertension en combattant le stress oxydant (**Cole et al., 2005; Liu, 2003; Riboli & Norat, 2003**). Certaines études ont aussi montré que les antioxydants peuvent retarder la progression de la maladie d'Alzheimer qui est fréquemment observée chez les personnes âgées (**Howes et al., 2003**).

Diverses espèces du genre *Mantha* possèdent un effet antioxydant. Les acides phénoliques, Flavones et flavanones sont les principaux composés antioxydants du genre *Menta*. Aussi, les terpènes oxygénés peuvent contribuer au potentiel antioxydant (**Merouane et al., 2014; Brahmi et al., 2017**).

2.1. Le stress Oxydant

Le stress oxydant est défini comme un déséquilibre entre les processus biochimiques de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) et ceux qui sont responsables de leur contrôle et élimination (**Sayre et al., 2008 ; Bloomer et al., 2008 ; Brown et al., 2008 ; Power et al., 2010**). Ce déséquilibre peut se produire quand le système de défenses antioxydant est surmené par l'augmentation des oxydants ou lorsque les défenses sont affaiblies par une carence d'apport et /ou de production d'antioxydants (**Kirschvink et al., 2008**). L'équilibre ou homéostasie redox est perturbé et les cellules deviennent vulnérables aux attaques par les ERO (**Mac, 2007**).

2.2. Les radicaux libres

Les radicaux libres, molécules pro oxydantes, ou espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) qui possèdent un électron célibataire (ou électron non apparié) sur leur couche externe (**Toussaint, 2008**), extrêmement instables, donc très réactifs. Sa durée de vie est très courte (quelques millisecondes voir quelques nanosecondes), ces composées peuvent réagir avec les molécules les plus stables pour apparier son électron (**André, 1998 ; Beckman et Ames, 1998**). Les radicaux libres jouent des rôles dans la signalisation, la migration et la différenciation cellulaire (**Ziech et al., 2010**), mais à des concentrations plus élevées, ils induisent la mort cellulaire et l'apoptose (**Salido et Rosado, 2009**), Ils sont des espèces réactives d'oxygène et les dérivés d'espèces azotées réactives (Tableau 02).

les espèces réactive du RCS (réactive chlorine espèce) sont aussi une partie intégrante des espèces comme l'acide hypochlorite (HOCL) (**kay et al., 2000 ; Harrison, 2000**).

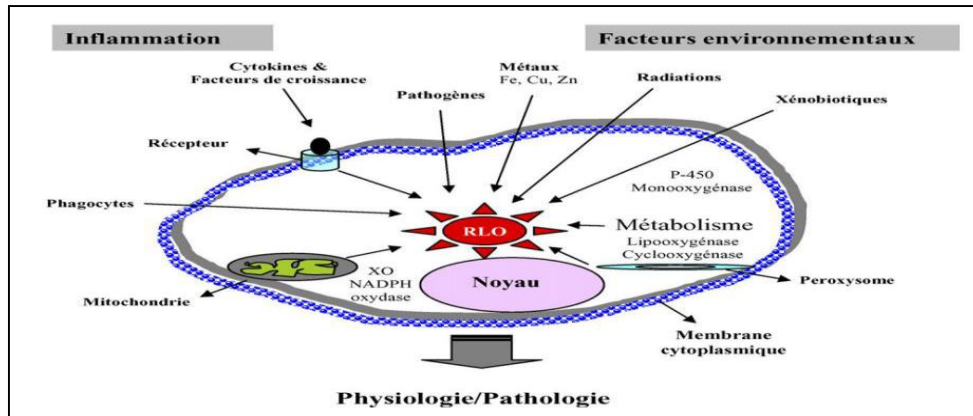
Tableau 02 : Principales espèces réactive de l'oxygène (ROS) et de l'azote (NOS) produite par métabolisme tissulaire et cellulaire (**Huet et Duranteau, 2008**).

Espèce réactives de l'oxygène (ROS)	Espèce réactive de l'azote(NOS)
O_2^- : anion superoxyde	NO : Oxyde nitrique
OH : Radical hydroxyle	NO_2 : Dioxyde d'azote
ROO : Peroxyde	HNO_2 : Acide nitreux
ROO : Alcoxyle	$ONOO$: Peroxynitrite
H_2O_2 : Peroxyde d'hydrogène	$ONOOH$: Acide peroxynitrique
$HOCL$: Acide hypochloreux	$ROONO$: Alkyle peroxynitrite
1O_2 : Oxygène singulet	

2.3. Sources des espèces réactives de l'oxygène(ROS)

Les situations pathologique et sources métabolique produisant les ROS sont nombreuses (figure 03): dysfonctionnement de la chaine mitochondriale (ischémie-reperfusion, vieillissement), activation de système enzymatiques (cytochrome P450, Xanthine oxydase, NADPH oxydase, glucose-oxydase, monoamine oxydase), libération de fer libre à partir de protéine créatrices (ferritine) ou d'une oxydation de certain molécules (glucose, hémoglobine, catécholamines...) figure 03. Alors que les espèces réactives du NO sont essentiellement

produites par la NO-synthase. Enfin une mauvaise alimentation pauvre en antioxydants contribuera également à l'apparition du stress oxydant (Pincemail *et al.*, 2002; Alfonso *et al.*, 2009).



XO : xanthine oxydase ; P-450 : cytochrome P-450

Figure 03 : Origine extra et intracellulaire des radicaux libres dérivés de l'oxygène (Alfonso *et al.*, 2009).

2.4. Conséquences du stress oxydatif

Des concentrations élevées en ERO peuvent être un important médiateur de dommages des structures cellulaires, des acides nucléiques, des lipides et des protéines (Figure 04) (Vlko *et al.*, 2007).

Selon **favier (2003)**, la plupart des maladies induites par le stress oxydant apparaissent avec l'âge, car le vieillissement diminue les défenses antioxydantes et augmente la production mitochondriale de radicaux.

Le stress oxydant sera la principale cause initiale de plusieurs maladies comme le cancer, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, les œdèmes pulmonaires et vieillissement accéléré...etc.

Le stress oxydant est aussi un des facteurs potentialisant l'apparition de maladies multifactorielles tel que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardiovasculaires.

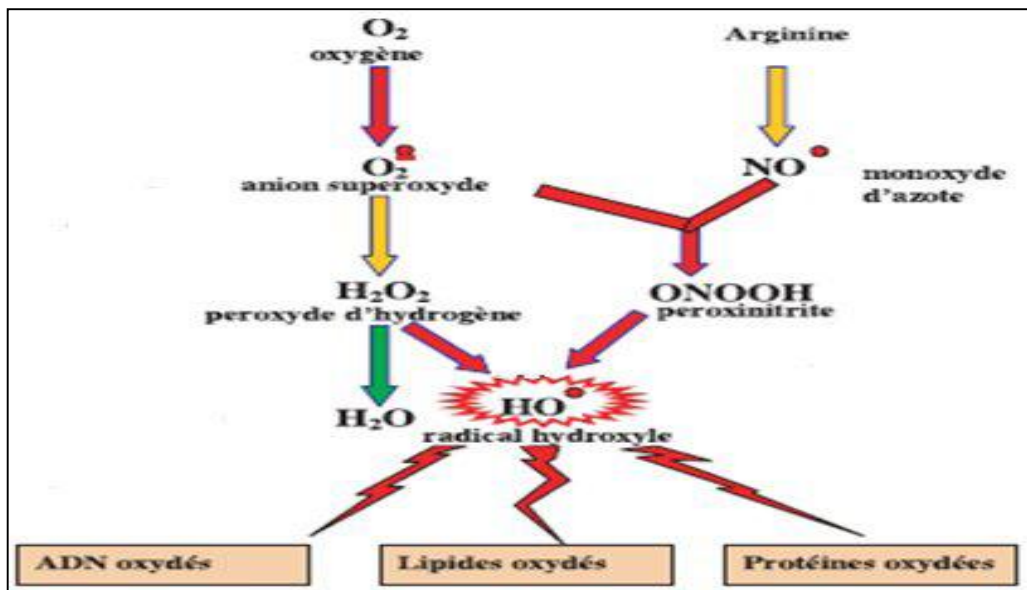


Figure 04 : Principales cibles des ERO (Favier, 2003)

2.5. Les antioxydants

Un antioxydant est une molécule capable d'empêcher l'oxydation d'autre molécules et toute substance qui, en faible concentration par rapport au substrat susceptible d'être oxydé, prévient ou ralentit l'oxydation de ce substrat (Halliwell & Gutteridge, 1989 ; Sies, 1993 ; Halliwell, 1995).

2.5.1 Mécanismes d'action des antioxydants

Un antioxydant peut agir de diverses manières selon Coene (2004) :

- Il peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci et en le préservant ainsi de l'oxydation.
- Il peut arrêter la réaction en chaîne qui préside à la multiplication des radicaux libres, le plus souvent parce que la structure des antioxydants est relativement stable.
- Il peut absorber l'énergie excédentaire de l'oxygène singulet pour la transformation en chaleur.
- Il peut aussi agir via la chélation avec des métaux. Ce qui a pour effet de transformer ralentir les réactions de Fenton (formation de radicaux hydroxyles résultant de la réaction du fer ferreux avec le peroxyde d'hydrogène selon une réaction d'oxydo-réduction).

2.5.2. Classification

- Antioxydants endogène (enzymatique)

L'organisme humain possède un système enzymatique, constitué principalement de trois enzymes: la superoxyde dismutase (SOD), la catalase et la glutathion peroxydase (GPx) (**Avissar et al., 1989**).

Ces enzymes ont une action complémentaire sur la cascade radicalaire au niveau du superoxyde et du peroxyde d'hydrogène, conduisant finalement à la formation d'eau et d'oxygène moléculaire (**Marfak, 2003**).

- La superoxyde dismutase (SOD) réagit contre les produits toxiques de métabolisme cellulaire, et catalyse la dismutation d' $O_2^{\cdot -}$ en H_2O_2 (Tableau 3, Equation 1) (**Papa et al., 2014**). Cette enzyme associée à des cofacteur métallique les ions de cuivre et de zinc, donnait le complexe Cu-SOD ou Zn-SOD (c'est une forme cytosolique et nucléaire) de manganèse en donnait le complexe Mn-SOD (consternant la forme mitochondriale et en plus d'une forme extracellulaire (EC-SOD) (**Peng et al., 2014**).
- La Catalase (CAT) est une enzyme qui catalyse la transformation le molécule de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en molécule d'eau (H_2O) et O_2 moléculaire (Tableau 3, Equation 2) (**Bonnefont et Collin, 2010**), et se trouve dans les hématies et dans les peroxysomes de nombreux tissu et cellules (**Tokraz et al., 2013**).
- La glutathion peroxydase (GPX) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation d' H_2O_2 en H_2O et O_2 et la réduction de divers hydroperoxydes lipidiques. Lors de cette réaction (Tableau 3, Equation 3), deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion disulfure (GSSG) (**Jacquot, 2013**). Le GSSG ainsi produit est à nouveau réduit par la glutathion réductase (GR) utilisant le NADPH comme donneur d'électron (Tableau 3, Equation 4) (**Foyer et al., 2008 ;Lonn et al., 2012**). Ces deux enzymes sont localisées dans le cytosol et dans les mitochondries (**Sorg, 2004**).

Tableau 03 : Les différentes équations d'antioxydants endogène

Nombre	Equation
1	$H_2O_2 + O_2^{\cdot -} \Rightarrow O_2 + OH^- + HO^{\cdot}$
2	$2H_2O_2 \Rightarrow 2H_2O + O_2$
3	$ROOH + 2 GSH \Rightarrow ROH + GSSG + H_2O$
4	$H_2O_2 + 2 GSH \Rightarrow H_2O + GSSG$

- Les antioxydants exogènes (non enzymatiques)

D'autres substances exogènes sont apportées par l'alimentation, telles que la vitamine E (tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique), l'ubiquinone, et les caroténoïdes, D'autres composés comme les alcaloïdes, les polyphénols et les huiles essentielles sont également considérés comme antioxydants exogènes (**Bruneton, 1999**) .

- La vitamine C : est l'un des principaux antioxydants présent dans les fluides intra et extracellulaires, ses activités biologiques viennent de son puissant potentiel réducteur. Cependant un effet peroxydant de cette vitamine a été constaté en présence de Fe^{+3} (**vertuani et al., 2004**).
- La vitamine E : la vitamine E ou α -tocophérol, et un antioxydant liposoluble, elle se localise entre les chaînes d'acides gras des phospholipides qui constituent les membranes et les lipoprotéines. Le rôle essentiel de la vitamine E est de capter les radicaux peroxydés lipidiques ROO^{\cdot} qui propagent les chaînes de peroxydation (**Gardés et al., 2003**).
Les données cliniques ont prouvé que les patients d'Alzheimer obtiennent des avantages remarquables au traitement par vitamine E (**mohemmedi, 2006**).
- Les caroténoïdes et les polyphénols : Antioxydants d'origine végétale sont généralement de bons capteurs de radicaux hydroxyles OH^{\cdot} et peroxydes ROO^{\cdot} . Ils sont donc susceptibles d'inhiber les chaînes de peroxydation lipidique, mais d'une manière moins efficace que celle de α -tocophérol (**Gardés et al., 2003**).
- Les flavonoïdes sont des composants présents dans la plupart des plantes. plus de 8000 polyphénoliques, y compris plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans diverses plantes, et ce nombre est encore en croissance (**Beecher, Harborne et al. 1999**). Il a été rapporté que les flavonoïdes peuvent agir comme antioxydants par piégeage des radicaux tels que les radicaux :

superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) (Hu et al., 1995 ; Robak & Gryglewski, 1988), hydroxyle (OH^{\cdot}) (Husain et al., 1987) et l'oxygène singulet (1O_2) (Takahama 1984).

- Les huiles essentielles sont des substances huileuses, volatiles et odorantes qui sont sécrétées par les plantes aromatiques que l'on extrait par divers procédés dont l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation (Iserin et al., 2007). Elle ne contient ni protéines, ni lipides, ni glucides, ne contient pas de minéraux ni de vitamines. Elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). les huiles essentielles ont une activité antioxydante de grand intérêt car elles peuvent préserver les aliments des effets toxiques des oxydants et jouent un rôle important dans la prévention de certaines maladies (Miguel, 2010).

- Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluène (BHT), gallate propylée (PG) et le tetrabutylhydroquinone (TBHQ) (figure 05) sont largement utilisés pour la conservation des produits alimentaires et cosmétiques, par exemple, parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant leur sécurité est très discutée et ils génèrent un besoin de recherche, des matières de substitution a partir des sources naturelles (Maamri, 2008).

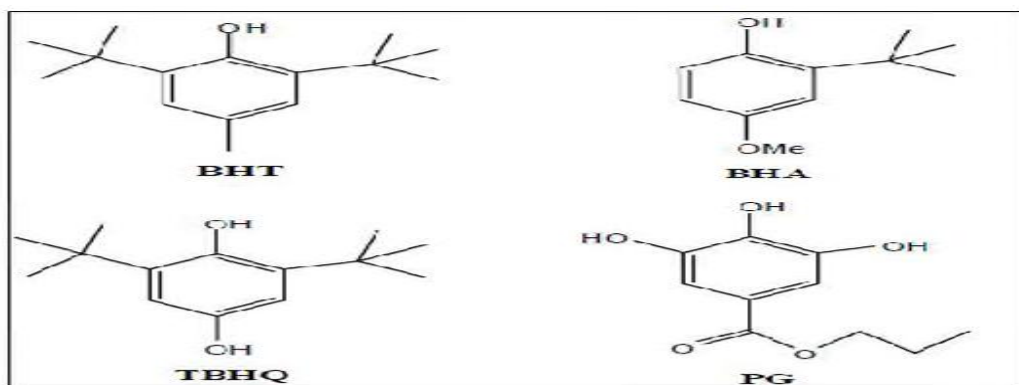


Figure 05 : Les Antioxydants Synthétiques.

2.5.3. Utilisation des antioxydants

Les antioxydants sont utilisés dans plusieurs domaines :

- En médecine en tant que médicament et complément alimentaire pour l'homme ; exemple : les maladies du stress, des activités antioxydants : vitamine E, vitamine C, luteine, xantine.

- Dans l'industrie chimique : pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie pour protéger les métaux de l'oxydation.
- Dans l'industrie agro-alimentaire : pour éviter le rancissement des corps gras.
- Dans l'industrie teinturerie : pour éviter l'oxydation des colorants au soufre ou des colorant des cuve lors de la teinture (Bouhadjra, 2011).

2.6. Technique d'évaluation de l'activité antioxydant

2.6.1. Test de piégeage du DPPH

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable possédant un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Cette délocalisation empêche la polymérisation du composé, qui reste sous forme monomère relativement stable à température ambiante (Figure 06).

Ainsi, cet état induit l'apparition d'une couleur violet foncée bien caractéristique de la solution DPPH. Cette couleur disparaît en présence d'antioxydant lorsque le DPPH est réduit, passant au jaune pâle du groupe picryl, l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Sanchez-Moreno, 2002). Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm (Gulcin *et al.*, 2003 ; Molyneux, 2004 ; Roginsky et Lissi, 2005).

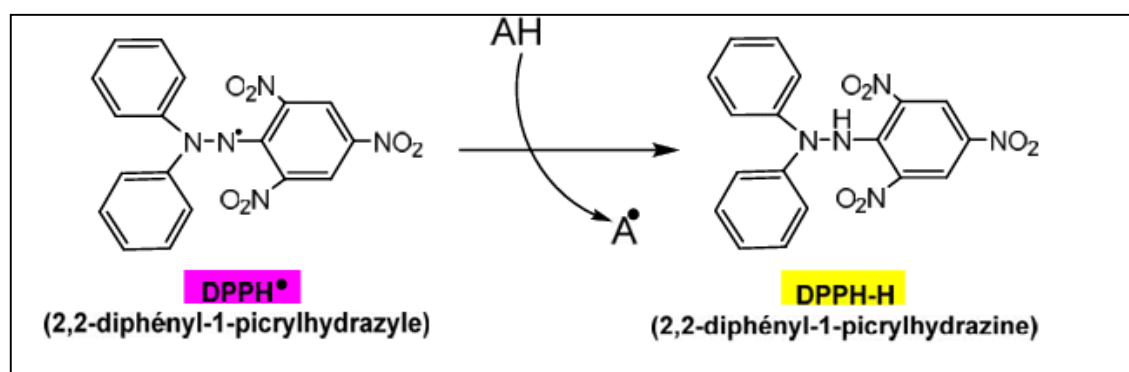


Figure 06 : Mécanisme réactionnel du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant (AH).

2.6.2. Test du blanchissement du β -carotène

L'activité antioxydante est déterminée dans cette méthode par la mesure de l'inhibition de la dégradation oxydative du β -carotène (décoloration) par les produits d'oxydation de l'acide linoléique.

En fait, l'oxydation de l'acide linoléique génère des radicaux peroxydes suite à l'abstraction des atomes d'hydrogène à partir de groupements méthylènes. Ces radicaux libres vont par la suite oxyder le β -carotène hautement insaturé entraînant ainsi la disparition de sa couleur rouge, qui est suivie spectrophotométriquement à 490 nm (**Shon et al., 2003**). Cependant, la présence d'un antioxydant pourrait neutraliser les radicaux libres dérivés de l'acide linoléique et par conséquent prévenir l'oxydation et le blanchissement du β -carotène (**Deba, 2008**).

2.6.3. Test de réduction du fer FRAP (Ferric reducing – antioxidant power)

Le pouvoir réducteur d'un extrait est associé à son pouvoir antioxydant. L'activité réductrice du fer, est basé sur la réaction chimique de réduction du fer ferrique (Fer (III)) présent dans le complexe $K_3Fe(CN)_6$ en fer ferreux (Fer(II)). L'absorbance du milieu réactionnel est déterminée à 700nm (**Zhao et al., 2007; Ali et al., 2014**). Une augmentation de l'absorbance un fonction de la concertation des substances testées, correspond à une augmentation de leur pouvoir réducteur correspond à une augmentation du pouvoir réducteur (**Hubert, 2006**).

Chapitre 02 : Matériel et Méthode

Notre travail s'est étalé sur une période de 3 semaines, au niveau du laboratoire de recherche des plantes Médicinales et Aromatique Département de biotechnologie, Université de Blida 1, pour réaliser l'extraction et les tests de l'activité antioxydant.

1. Matériel

1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué de la partie aérienne de la plante de *Mentha rotundifolia* (figure 07). La plante a été récoltée au stade feuillaison au mois de février 2020 dans la région de Bouinan localisées dans la wilaya de Blida.

La récolte a été effectuée dans une matinée, ensoleillée ou la température avoisinée les 20°C et l'humidité était de 65%.



Figure 07 : *Mentha rotundifolia* avant floraison février 2020

1.2. Localité de récolte

La région de Bouinan est située au niveau de la wilaya de Blida dans la metidja central, elle est située à 36° 31' 54'' nord et 2° 59' 31'' Est. L'altitude de Bouinan est de 91 m (figure 08).



Figure 08 : Présentation géographique de la station de récolte de Bouinan.

1.3. Matériel non biologique

Plusieurs réactifs chimiques et appareillage ont été utilisés dans la présente étude (extraction, préparation des extraits et screening) (voir annexe 01 et 02).

- **Méthodologie**

Notre travail consiste deux partie : partie expérimentale et partie de discussion des résultats

- La partie expérimentale a porté sur l'extraction des huiles essentielles et des composés phénoliques.

- La Partie discussion des résultats : comporte l'étude de l'activité antioxydante dont le travail expérimentale au laboratoire n'a pas été possible à cause de confinement du la pandémie à covid 19. Elle est faite par comparaison de cinq travaux de recherche publiés ces dernières années (**Bentoura (2015), Benabdalah et al. (2016), Ferdjoui (2014), Labat (2018), Nickavar et al. (2008)**) et qui ont traité l'activité antioxydant des métabolites secondaires de *Mentha rotundifolia* récoltés en Algérie et en Iran. Notre approche est de comparer les résultats obtenus par les auteurs pour en tirer les discussions et des conclusions.

2. Méthodes

2.1. Séchage et broyage

Les feuilles de *Mentha rotundifolia* sont nettoyées et séchées à labri de la lumière et de l'humidité à température ambiante dans un endroit aéré durant 15 jours. Après séchage, nous les avons finement broyées à l'aide d'un mixeur électrique. la poudre est conservée dans des sacs en papier jusqu'à utilisation (figure 09).

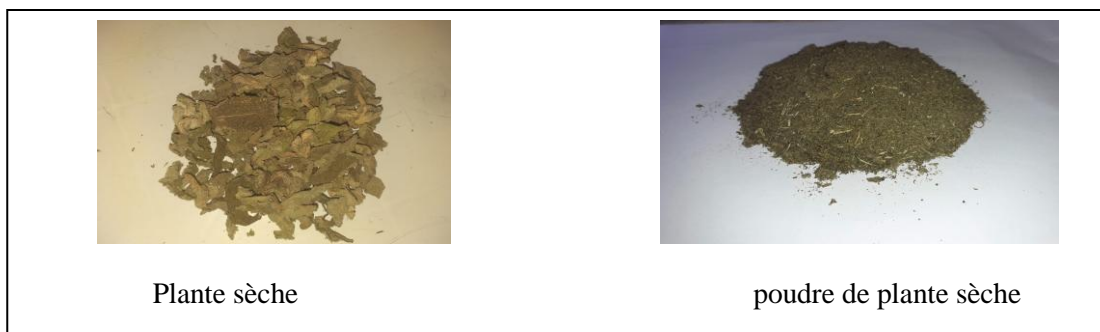


Figure 09 : Echantillon de plante et poudre sèche de *Mentha rotundifolia*

(Original, 2020)

2.2. Extraction de l'huile essentielle

- **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 différentes densité (**Bruneton, 1999**).

- **Mode opératoire**

Mètre 50 g de feuilles séchées de *Mentha rotundifolia* dans un ballon ronde de 1000 ml et introduire 650 ml d'eau distillée dans le même ballon, en utilisant un appareil de type Clevenger.

Chauffer le contenu avec une chauffe ballon, la vapeur se charge de substance volatils qui vont être condensées grâce à un réfrigérant, et cela pendant trois heures, cette opération a été répéter 5 fois. La récupération d'huile essentielle est faite après la lecture du rendement à l'aide de la burette graduée attaché à l'appareil. Ces huiles essentielles sont récupérées directement sur un eppendorf, après sa pesée.

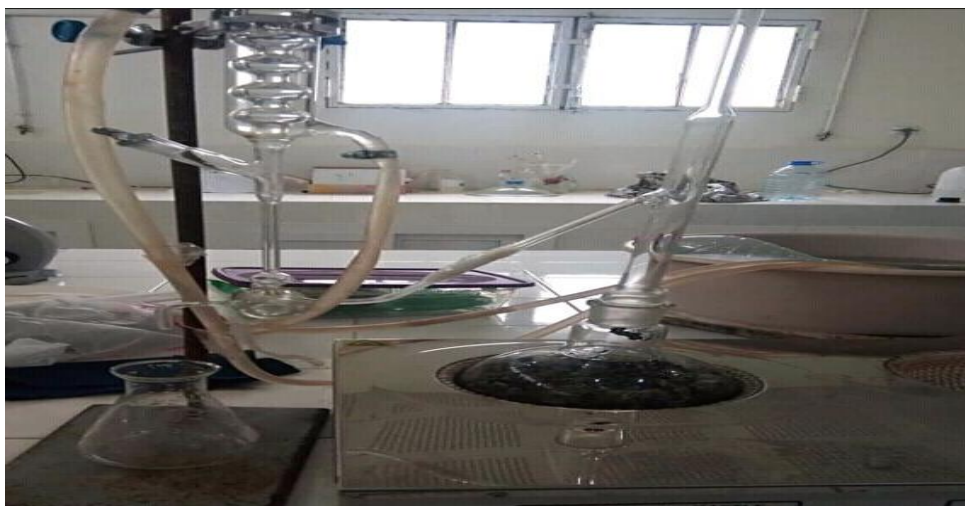


Figure 10: Extraction de l'huile essentielle par hydrodistillation.

- **Conservation de l'huile essentielle**

La conservation des huiles essentielles exige certaines précautions indispensables. C'est pour cela qu'on a conservé notre huile à température voisine de 4 °C à l'abri de la lumière (Ayoughi et al., 2011), enveloppé de papier d'aluminium, jusqu'à leur usage pour éviter toute dégradation.

- **Détermination du rendement en huiles essentielles**

Le rendement est obtenu par rapport à la matière végétale sèche et exprimé selon la formule ci-dessous :

$$R_H = (V / M_{MV}) \cdot 100$$

Où :

R_H : Rendement des huiles essentielles en (ml) par rapport à 100g de matière sèche (%).

V : volume d'huile essentielle en (g).

M_{MV} : masse de la matière végétale sèche.

2.3. Préparation des extraits méthanolique

Une prise d'essai de 5 g de poudre de la plante de *Mentha rotundifolia* a été mise à macérer dans 50 ml de méthanol à 80% sous agitation magnétique pendant 30min. L'extrait a ensuite été stocké à 4°C durant 24 h, filtré et en suite le solvant est évaporé à sec sous pression réduite à 52°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Après évaporation du solvant, l'extrait obtenu est récupéré (Falleh et al., 2008)

- **Calcul du rendement**

Le rendement exprimé en pourcentage est calculé comme suit :

$$R\% = M / M_0 \cdot 100$$

Où :

R% : Rendement exprimé en pourcentage.

M : Masse en gramme de l'extrait résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal traité.

2.4. Préparation des extraits aqueux

10g de poudre de *Mentha rotundifolia* dissous dans 150ml d'eau distillée ont été chauffé pendant 2h, après filtration à froid par papier filtres. Ce filtrat a ensuite été évaporé à sec sous pression réduite à 65°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. l'extrait obtenu est récupéré (Majhenc et al., 2007).

2.5. Test du screening phytochimique

Le screening phytochimique est le moyen indispensable pour mettre en évidence la présence des groupes de familles chimiques présentes dans la partie étudiée de la plante soit sur la poudre de broyat, soit sur un infusé par les réactions quantitative de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des phénomènes de précipitation ou de coloration par des réactifs spécifique à chaque famille de composé (bouyer, 1996).

2.5.1. Préparation de l'infusé

A 5g de poudre végétale, sont ajoutés 50ml d'eau distillée bouillant, laissé infuser pendant 15min avec agitation de temps en temps, après filtrer.

2.5.2. Identification de quelques métabolites secondaire

- **Les anthocyanes**

A 5ml d'infusé, sont ajoutés quelques gouttes d'ammoniaque ½. L'apparition d'une couleur rouge indique la présence des anthocyanes.

- **Les tanins**

A 5ml d'infusé, sont ajoutés quelque goutte d'une solution de FeCl₃ à 5%. La réaction donne une coloration bleue noir en présence des tanins.

- **Les tanins catéchiques**

15ml d'infusé, sont additionnés à 7ml de Stiasny (10ml de formol a 40% et 5ml d'HCL concentré). La réaction donne une coloration rouge en présence des tanins catéchiques.

➤ Les tanins galliques

A 5ml d'infusé, sont ajoutés 2 g d'acétate de sodium et quelque gouttes de FeCl_3 . La réaction donne une coloration bleue foncé en présence des tanins galliques.

• Les flavonoïdes

A 5ml d'infusé, sont additionnés 5ml d'HCL, un copeau de Mg et d'alcool isomylique. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

• Les alcaloïdes

Introduire 1g de poudre végétale dans un tube à essai. Ajouter 10ml d'acide sulfurique (10%). Agiter énergiquement pendant 2min et filtrer, ajouter 2 gouttes de réactif de Dragendorf. Résultats : apparition d'un précipité rouge orangé.

• Les glucosides

A 2g de poudre végétale, sont ajoutées quelques gouttes d'acide sulfurique. La formation d'une coloration rouge brique ensuite violette indique la présence des glucosides.

• Les mucilages

On introduit 1ml de l'infusé dans un tube et on lui ajoute 5ml d'éthanol absolu, l'obtention d'une précipitation floconneuse indique la présence des mucilages.

2.6. Dosage de polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

2.6.1. Détermination de la teneur phénolique total : (Boussouf et al., 2017)

La teneur totale en phénols a été déterminée par la méthode Folin-Ciocalte (Othman et al., 2007). Une aliquote de 0,2ml d'échantillon de *Mentha rotundifolia* a été dissoute dans 1,5ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué (facteur dilutique 1/10). Les solution Obtenus ont été mélangées et incubées à température ambiant pendant 5min.

Un volume de 1,5ml d'une solution à 7,5% de carbonate de sodium (Na_2CO_3) a ensuite été ajouté. Après 90min, l'absorbance a été mesurée à 725nm. L'acide gallique a été utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage. Les résultats d'acide gallique ont été exprimés en équivalents d'acide gallique(GAE) par g d'extrait brut. Tous les échantillons ont été analysés trois fois et la valeur moyenne a été calculée.

2.6.2. Détermination de la teneur totale de flavonoides : (Boussouf et al., 2017)

La teneur en flavonoides des extraits a été déterminée par un spectrophotomètre Shimadzu UV mini 1240 selon la méthode de **Djeridane et al., (2006)**. Cette méthode est basée sur la formation d'un complexe flavonoides-aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm. La quercétine a été utilisée pour faire la courbe d'étalonnage. Un échantillon de 1,5ml dilué a été mélangé avec 1,5ml d'une solution de chlorure d'aluminium à 2%. Après incubation à température ambiante dans l'obscurité pendant 30min, l'absorbance du mélange réactionnel a été mesurée à 430nm. La teneur en flavonoides a été exprimée en équivalents de quercétine (QE) par g d'extrait brut. Le test est réalisé en trois répétitions.

2.7. Analyse chromatographique des huiles essentielles : (El Arch et al., 2003)

2.7.1. Chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS)

L'identification des constituants a été réalisée en se basant sur leurs indices de Kovats (Ik) et sur la chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse (GC-MS). Cette dernière est réalisée sur un chromatographe en phase gazeuse de type Hewlett-Packard (série HP 6890) couplé avec un spectromètre de masse (série HP 5973). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (30m . 0,25mm), l'épaisseur du film est de 0,25 μm , la température de la colonne est programmée de 50 à 250°C à raison de 4°C/min. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit est fixé à 1,5ml/min. Le mode d'injection est split (rapport de fuite : 1/70, débit 112ml/min). L'appareil est relié à un système informatique gérant une bibliothèque de spectres de masses NIST 98.

2.8. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de *Mentha rotundifolia*

Dans notre étude, la mise en évidence de l'activité antioxydante in vitro des extraits de *Mentha rotundifolia* par quatre techniques à savoir : le piégeage du radical libre DPPH, la réduction du fer (FRAP), le test de blanchiment du β -carotène, Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS».

2.8.1. Test de piégeage du radical libre DPPH (Bentoura, 2015)

- **Principe**

Le DPPH ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl est un radical libre stable. sous forme libre, il est de couleur violette, mais une fois réduit par un donneur d'hydrogène, sa coloration devient jaune (Leitao, 2002 ; Chen et al., 2004).

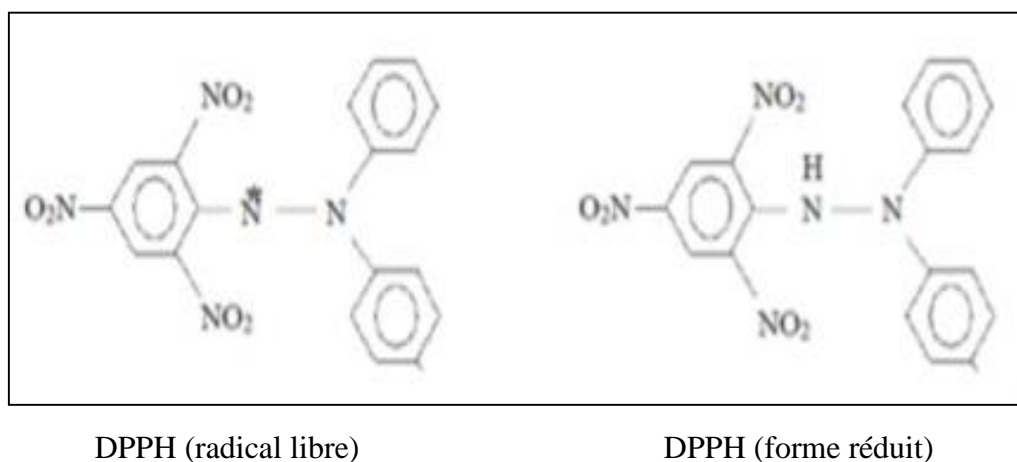


Figure 11 : forme libre et réduit du DPPH (Razafindrakoto, 2010)

- **Mode opératoire**

- **Préparation de la solution du DPPH**

2mg de DPPH sont pesés à l'aide d'une balance de précision et dissout dans 50ml de méthanol absolu, la préparation est conservée à l'abri de la lumière jusqu'à utilisation.

➤ Préparations d'extraits

Pour tous les extraits que ce soit la concrété polaire ou l'huile essentielle, on prépare des solutions mères dans du méthanol absolu, ces dernière vont subir des dilutions qui représente des concentrations de l'ordre $\mu\text{g/ml}$ (Tableau 04).

Tableau 04 : Les différentes concentrations des extraits testées pour la méthode du piégeage du radicale libre DPPH.

Extraits a testé	HE De feuilles de <i>Mentha rotundifolia</i>	Extraits méthanolique
Les concentrations en $\mu\text{g /ml}$	300	50
	400	100
	500	200
	700	400
	1000	500

• L'essai DPPH

Dans des tubes secs stériles, on a introduit à partir des solutions mères (HE et extrait méthanolique) respectivement (300 μL , 400 μL , 500 μL , 700 μL , 1000 μL) et (50 μL , 100 μL , 200 μL , 400 μL ,500 μL).

- On ajuste avec 1ml de méthanole absolu.
- 2 ml de solution DPPH sont ajoutées dans chaque tube.
- On laisse incuber pendant 30 minutes à température ambiante et l'abri de la lumière.
- Pour chaque concentration, le test est réalisé trois fois de suite.
- Pour chaque série on prépare un blanc constitué de méthanol et la solution DPPH.
- Des solutions standards (Quercétine et Rutine) sont préparées en suivant les mêmes étapes et les mêmes conditions expérimentales.
- La lecture est effectuée par la mesure de l'absorbance à la longueur d'onde de 515nm par spectrophotomètre (tableau 05).

Tableau 05 : les concentrations des extraits (a et b) et leurs additifs en méthanol et solution DPPH

Les Huiles essentielles (a)					
Les Concentrations µg /ml	300	400	500	700	1000
Volume du méthanol (µL)	700	600	500	300	0
Volume de solution DPPH(ml)	2	2	2	2	2

Extrait méthanolique (b)					
Les Concentration µg / ml	50	100	200	400	500
Volume du méthanol (µl)	950	900	800	600	500
Volume de solution DPPH (ml)	2	2	2	2	2

- **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en activités antioxydant qui définit la capacité de piège le radicale libre, elle estimée par pourcentage (%) de décoloration du DPPH, elle se calcule selon la formule suivant (**wang et al., 2008**) :

$$\% = [(Abs_c - Abs_e) / Abs_c] \cdot 100$$

Avec :

Abs_c : Absorbance du blanc (de la réaction de témoin ou contrôle).

Abs_e : Absorbance de l'échantillon testé (composé d'essai).

- Les résultats ont été exprimés par la moyenne des trois mesures \pm écart type.
- La détermination de EC50 appelée aussi IC50, est déterminée pour chaque (HE et extrait méthanolique), Elle est définie comme étant la concentration de substrat qui cause la perte de l'activité du DPPH de 50%.
- Les résultats de l'IC50 moyenne ont été calculés par les courbes de régressions linéaires.
- Le calcul du pouvoir radicalaire : APR, il est inversement proportionnel l'IC50.
- IC50 : Concentration de l'extrait nécessaire pour réduit à 50% la concentration initial de radical DPPH.

2.8.2. Test de blanchissement du β - carotène/acide linoléique (Benabbdallah et al., 2016)

Une solution de β -carotène a été préparée en dissolvant 2mg de β -carotène dans 20ml de chloroforme. Cette solution (2ml) a été mélangée avec 20mg d'acide linoléique et 200mg de tween40. Après élimination du chloroforme à 40°C sous vide, 50ml d'eau ultra-pure oxygénée ont été ajoutés, puis l'émulsion a été vigoureusement secouée. Des Aliquotes (750 μ l) de cette émulsion ont été transférés dans différents tubes à essai contenant différentes concentration d'extraits (50 μ l). Dès que l'émulsion a été ajoutée à chaque tube, l'absorbance à temps zéro du témoin, contenant du méthanol au lieu de l'extrait, a été mesurée à 470nm. Les échantillons d'essai ont ensuite été incubés dans un bain-marie à 50°C pendant 120min, lorsque l'absorbance a été mesurée à nouveau.

L'inhibition du blanchiment du β -carotène a été calculée en utilisant l'équation suivant :

$$\text{Inhibition (\%)}: [(A_t - C_t) / (C_0 - C_t)] \cdot 100$$

Où un A_t et C_t sont les valeurs d'absorbance mesurées pour échantillon à tester et le contrôle, respectivement, après une incubation de 120 min, et C_0 est la valeur d'absorbance du témoin mesurée à temps nul pendant l'incubation.

Les résultats sont exprimé en IC₅₀ valeurs, la concentration requise pour provoquer un 50% β -carotène inhibition du blanchiment du carotène, BHT comme contrôle positif (**Mata et al., 2007**).

2.8.3. Test de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe²⁺) (Lablate, 2018)

Selon la méthode de **Deker et Welch. (1990)** avec quelque modification, 250µL des échantillons ont été mélangés avec 25µL de mmol/L de FeCl₂ et 100µL de 5mmol/L de ferrozine. Le mélange est dilué avec de l'éthanol et laissé au repos à température ambiante pendant 10 minutes. L'absorbance de la solution est mesurée par spectrophotométrie à 562 nm. L'activité de chélation des métaux est calculée selon la formule :

$$\% = [A_{562(\text{contrôle})} - A_{562(\text{échantillon})} / A_{562(\text{contrôle})}] \cdot 100$$

Donc : A_{contrôle} est l'absorbance de la réaction du contrôle (contenant tous les réactifs sauf le composé d'essai) et A_{échantillon} est l'absorbance du composé d'essai.

L'activité de chélation des métaux a été exprimée en valeurs de CI₅₀ (mg/ml) pour comparaison. La valeur CI₅₀ de chaque échantillon est définie comme la concentration de l'échantillon requise pour une diminution de 50% de l'absorbance de l'échantillon. L'EDTA est utilisé comme témoin positif.

2.8.4. Test de pouvoir réducteur FRAP (Ferric reducing antioxidant power) (Ferdjoui, 2014)

Le Pouvoir réducteur est basé sur la méthode décrite par **Orhan et al. (2013)**, avec quelques modifications.

➤ Principe

Le test du pouvoir réducteur consiste à évaluer l'aptitude d'un échantillon à donner un électron convertissant le fer de la forme Fe³⁺ à la forme Fe²⁺ qui peut être quantifiée par la mesure de la formation de la couleur bleu (bleu de Prusse) du ferricyanide de potassium à 700 nm. Donc une absorbance élevée indique que l'échantillon possède un grand pouvoir réducteur (**Gholivand et al., 2010**).

➤ Mode opératoire

A 1ml de chaque solution d'extrait à des concentrations différentes (de 50 à 1000µg/ml pour extrait méthanolique, de 0,05 à 3mg/ml pour HE, ont été mélangés avec 2,5ml d'une solution tampon phosphaté (0,2 M, PH 6,6) et 2,5ml d'une solution de ferricyanure de potassium

$K_3F_2(CN)_6$ à 1%. Les mélanges sont incubés à 50°C pendant 20min. Ensuite, 2,5ml d'acide trichloroacétique à 10% sont additionnés. Le tout est agité vigoureusement. Enfin, on prélève 2,5ml de chaque tube et on ajout 2,5ml d'eau distillée et 0,5 ml $FeCl_3$ (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700nm.

La IC_{50} est la concentration de d'inhibition 50% (**Barros et al., 2010**). Elle est calculée à partir de l'équation de la courbe de l'absorbance en fonction de la concentration de l'échantillon.

2.8.5. Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS» (Nickavar et al., 2008)

Le cation radical ABTS a été généré en faisant réagir une solution mère ABTS 7mM avec une solution de persulfate de potassium 2,45mM et le mélange a été maintenus dans l'obscurité à température ambiante pendant 12-16h avant utilisation. Avant le test, La solution a été diluée avec éthanol jusqu'à une absorbance de $0,70 \pm 0,02$ à 734nm. Une aliquote (50 μ L) de chaque échantillon à différentes concentration (500, 250, 100, 50, 25, 10, 5 μ g/ml) a été ajoutée à 5ml de solution ABTS diluée. Après 10min, l'absorbance a été mesurée à 734nm.

L'inhibition du cation radical ABTS en pourcentage a été calculée par la formule suivante :

$$I_{ABTS}^+ \% = [A_{\text{contrôle}} - (A_{\text{échantillon}} - A_{\text{vide}}) / A_{\text{contrôle}}] \cdot 100$$

Un éthanol témoin (5ml) plus chaque solution échantillon (50 μ l) a été utilisé comme blanc. Une solution ABTS (5ml) plus de l'éthanol (50 μ L) a été utilisé comme témoin négative. De plus, une solution de rutine (aux concentration de 200, 100, 50, 20,10, 5 μ g/ml) a été utilisé comme témoin positive (**Re et al., 1999**).

L'ABTS % a été tracé par rapport à la concentration de l'échantillon et une courbe de régression logarithmique a été établie afin de calculer la valeur IC_{50} (concentration de inhibitrice), ce qui signifie la concentration de l'échantillon (μ g/ml) nécessaire pour diminuer l'absorbance de L'ABTS a 50%.

Chapitre 03 : Résultats et discussion

1. Rendements des différents extraits

Le rendement en huile essentielle et en extrait méthanolique des feuilles de *Mentha rotundifolia* sont exprimés en pourcentage par rapport à la matière végétale sèche. Les résultats obtenus sont présentés de tableau 06 :

Tableau 06: Rendement en pourcentage des différents extraits.

Extraits	Rendement %
Huile essentielle	0.4±0.126
Extrait méthanolique	8%

L'extraction de huile essentielle de *Mentha rotundifolia* réalisé par hydrodistillation, a permis d'obtenir une huile de couleur jaune claire avec un rendement de l'ordre de 0.4%±0.126. En comparaison avec d'autres travaux nationaux et internationaux sur la même espèce, nous constatons que notre résultat est proche de celui rapporté par **Brahmi et al. (2016)** qui a obtenu un rendement de (0,49%) pour des plants récoltés dans la région de Chelef. notre résultat est inférieur aux rendements obtenus par **Brada et al. (2007)** (0,8%) qui ont travaillé sur des plants prélevés dans le nord d'Algérie. **Lehbab (2013)** a obtenu un rendement de 1,7% pour l'espèce récolté à Tlemcen. **Benabdallah (2017)** en travaillant avec des échantillons collectés dans le Nord -Est d'Algérie (El- Kala) a obtenu un rendement de 1,65%. **Aouadi et al. (2020)** à obtenue un rendement de 1,29 pour des plantes récoltes dans la région d'Annaba. Le plus faible rendement a été obtenu par **Brada et al. (2006)** (0,2%).

Le rendement de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* noté dans notre étude est inférieur à celui de **Derwichet al. (2010)** (1,54%) qui ont travaillé au Maroc. **Riahi et al. (2013)** ont obtenu des rendements plus élevé (1,26% pour les plants provenant de Béja et 1,04% pour les plants provenant de Bizerte en (Tunisie), De même **Lorenzo et al. (2002)** ont obtenu un rendement plus élevé (1,02% en Uruguay), le rendement le plus faible a été obtenu par **Pino et al. (1996)** (0,2 à Cuba).

Cette faible valeur obtenue peut être attribuée à la période de récolté (février), qui correspond au stade feuillaison. D'après **brada et al. (2007)**, les rendements en huile essentielle augmentent quand la plante entière est récoltée pendant la période de la floraison.

Ces divergences dans les résultats sont dues à plusieurs facteurs tels que la méthode utilisée, les parties de la plante utilisée, l'environnement, le génotype des plantes, l'origine

géographique, la période de récolte de la plante, le degré de séchage, les conditions de séchage, temps et température de séchage et la présence des mauvaises herbes (**Amzouar et al ., 2016**).

Le rendement de l'extrait méthanolique est de 8%. Ce résultat est comparable avec celui reporté par **Seladji (2015)** qui a montré que les feuilles de *Mentha rotundifolia* donnent un rendement de 7,70% d'extrait méthanolique.

1.1. Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles

Les critères d'appréciation d'une huile essentielle sont ses propriétés organoleptiques telles que le goût, la couleur et l'odeur. Ces propriétés ne donnent qu'une information très limitée sur cette essence. La qualité d'une essence et sa valeur commerciale sont définies par des normes fixées. Ces normes ont été établies par plusieurs organisations connues à l'échelle mondiale en précisant les conditions opératoires des analyses, et en mettant au point des monographies pour la caractérisation des huiles essentielles les plus courantes. Après l'extraction, nous avons déterminé les caractères organoleptiques de notre huile essentielle et comparé avec ceux de la norme **AFNOR, (2000)** (tableau 7).

Tableau 07 : Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*

Caractéristiques	Normes (Afroun, 2000)	Résultats obtenus
Aspect	Liquide, mobile et limpide	Liquide, mobile et limpide
Couleur	Jaune pale	Jaune claire
Odeur	Epicé, Pénétrante	Très fort et Persistante caractéristique de l'espèce



Figure 12: l'huile essentielle obtenue à partir des feuilles de *Mentha rotundifolia*

(Photo originale)

2. Test du screening phytochimique

Nous avons réalisé des tests phytochimique des extraits de *Mentha rotundifolia*. Ces tests sont en relation avec l'intensité du précipité, et la coloration qui sont proportionnelle à la quantité de la substance recherchée.

Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau 08 et dans la figure 13 :

Tableau 08 : Résultats du screening phytochimique de *Mentha rotundifolia*

Métabolites secondaires	Résultats
Anthocyane	–
Tanin	+
Tanin gallique	+
Tanin catéchuque	–
Flavonoïde	+
Alcaloïde	+
Mucilage	+
Glucoside	–



1 : témoin, 2 : Anthocyane, 3 : Tanins, 4 : tanin catéchuque, 5 : Tanin gallique, 6 : flavonoïdes, 7 : Glucoside, 8 : Mucilage

Figure 13 : Screening phytochimique des extraits de *Mentha rotundifolia*

Sur l'ensemble des résultats obtenus, nous remarquons que les extraits des feuilles de *Mentha rotundifolia* sont riches en métabolites secondaires tel que les flavonoides, les tanins, les tanins galliques, les alcaloïdes, les mucilages, Par ailleurs, il est à noter l'absence des glucosides, des tanins catéchiques et Anthocyanes.

L'étude complète du screening phytochimique met en évidence la présence des composés chimiques possédant des activités biologique intéressantes, notamment les substances polyphénoliques (Flavonoides et tanins).

Les flavonoides présentent un grand intérêt dans beaucoup de domaines à l'instar des industries agroalimentaires, pharmaceutique (antioxydant), cosmétique (antivieillessement)...etc. (**Diallo, 2003**) et en agriculture tant efficaces pour la lutte contre les champignons pathogènes des grains des céréales (**Kalt, 2000**).

La présence de tanins dans la plante pourrait expliquer la forte activité antioxydante puis qu'ils sont des bons piègeurs des radicaux libres et inhibent la formation du radical superoxyde (**Badiaga, 2011**). Les tanins des plantes inhibent la croissance des insectes (**Schultz, 1988**), les feuilles riches en tanins galliques sont conçues pour le traitement des maladies respiratoires et la toux. Leurs propriétés antiseptiques et antibactériennes et antifongiques sont clairement démontrées dans le traitement des diarrhées infectieuses et dermatites (**Diallo, 2006**).

La présence d'alcaloïdes peut aussi prévoir une éventuelle utilisation de la plante dans certaines maladies (**Guessan et al., 2009**).

La présence de familles chimiques si importantes que recèle *M. rotundifolia* est à l'origine d'activités biologiques intéressantes sur divers plans. Les résultats de notre étude confirment les vertus thérapeutiques de la plante et sa large utilisation en médecine traditionnelle.

D'après les résultats du screening, différents groupes de métabolites secondaires ont été identifiés dans des feuilles de *Mentha rotundifolia* comme les tanins, les flavonoides, les alcaloïdes. Ces résultats ont été déjà confirmés par **Zekri et al., (2013)**.

3. Teneurs en polyphénols totaux et en flavonoides (Boussouf et al., 2017)

L'analyse quantitative de polyphénols et de flavonoides de l'extrait méthanolique des feuilles de *Mentha rotundifolia*, tels que déterminées par la méthode de Folin-Ciocalteu, sont indiqués en équivalent d'acide gallique (GAE) par référence à la courbe standard ($Y = 0.0024x + 0.0886$, $R^2 = 0.9142$), les résultats obtenus sont montrés dans le tableau 09. Les feuilles de *Mentha rotundifolia* sont riches en composés phénoliques. La teneur totale en flavonoides est

également plus élevée dans l'extrait avec $79,44 \pm 0,76$ mg équivalent quercétine (QE)/g d'extrait brut (CE) en référence à la courbe standard ($y = 0.0087x + 0.1121$, $R^2 = 0.9608$).

Tableau 09 : Teneur totale en phénols et flavonoïdes des extraits de *M. rotundifolia* de différentes régions.

Espèce et (Provenance)	Extraits	Total en phénol	Total en flavonoïde	Référence
MR (Nord, Est Algérie)	Extrait méthanolique	$350,10 \pm 0,96$ mg GAE /g	$79,44 \pm 0,76$ mg QE/g	Boussouf et al., 2017
MR(El Hamania , Algérie)	Extrait méthanolique	111.21 ± 4.90 mg GAE/g	6.68 ± 0.88 mg QE/g	Bentoura, 2015
MR(Iran)	Extrait éthanolique	$331,31 \pm 6,51$ µg /mg.	/	Nickavar et al., 2008
MR (Bejaia, Algérie)	Extrait éthanolique	$4,6 \pm 0,1$ mg GAE/ g	$3,3 \pm 0,1$ mg QE/g	Brahmi et al., 2015
MR(El-taraf, Algérie)	Extrait méthanolique	$15,10 \pm 0,60$ mg GAE/g	$12,30 \pm 0.30$ mg RE/g	Benabdallah et al., 2016

La principale raison du choix de ces groupe de métabolites secondaires réside dans le fait que les polyphénols et les flavonoïdes constituent les groupes responsables de l'activité antioxydante des plantes (**Osman et al., 2013**).

D'après les résultats enregistré par **Boussouf et al., 2017**, montré dans le tableau (09) nous distinguons que la teneur en polyphénols ($350,10 \pm 0,96$ mg GAE /g CE) est plus élevée par rapport à la teneur en flavonoïdes ($79,44 \pm 0,76$ mg QE/g CE), ces valeurs sont supérieures à celui déterminé par **Bentoura, 2015** (111.21 ± 4.90 mg EAG/g et 6.68 ± 0.88 mg EQ/g) pour les polyphénols et les flavonoïdes Respectivement.

Nickavar et al., 2008 qui ont travaillé sur les cinq espèces de menthe, ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux de *Mentha rotundifolia* est égale à $331,31 \pm 6,51$ µg /mg.

Benabdallah et al. (2016) ont rapporté que la teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux de l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* provenant du nord-est de

l'Algérie présente des valeurs de l'ordre de $15,10 \pm 0,60$ mg équivalent acide gallique/g d'extrait et $12,30 \pm 0,30$ mg équivalent rutine/g d'extrait pour les polyphénols et les flavonoïdes, respectivement. Les teneurs en polyphénols et en flavonoïdes sont nettement inférieures à ceux déterminées dans les extraits méthanolique de *Mentha rotundifolia* par **Boussouf et al., 2017**.

Brahmi et al., (2015) ont constaté que la teneur totale en polyphénols et en flavonoïdes de la même espèce récoltée à Bejaia (Algérie) est respectivement de $4,6 \pm 0,1$ mg équivalent acide gallique /g et $3,3 \pm 0,1$ mg équivalent quercetin/g. Ces valeurs des flavonoïdes et des polyphénols sont très inférieures (beaucoup plus faible) que celle obtenue par **Boussouf et al., 2017**.

Ebrahimzadeh et al. (2010) ont évalué les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes dans d'autre espèce du même genre (*Mentha spicata*), ils ont obtenus des valeurs de l'ordre de $153,3 \pm 5,1$ mg équivalent acide gallique/g d'extrait et $11,0 \pm 0,31$ mg équivalent quercetine/g d'extrait pour les polyphénols et les flavonoïdes, respectivement.

La différence des teneurs en polyphénols peut être due aux conditions biotiques et abiotiques, caractérisant la localisation géographique. Les conditions expérimentales peuvent aussi influencer, en effet ces différences peuvent être liées aux conditions climatiques rudes (les températures hautes, exposition solaire, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols (**W.U et al., 2004**).

La teneur phénolique dépend également d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (Génétique), le degré de maturation de la plante et la période de récolte. La distribution des métabolites secondaires peut changer pendant le développement de la plante (**Miliauskas et al., 2004; Podsedek, 2007; Falleh et al., 2008**).

L'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* est riche en composés phénoliques, flavonoïdes, ce qui permet d'avoir une activité importante. Ces composés phénoliques sont des antioxydants puissants susceptibles d'inhiber la formation des radicaux libres et de s'opposer à l'oxydation des macromolécules (**Hodek et al., 2002**). En effet, ils ont la capacité de piéger directement les radicaux libres comme le super oxyde, le radical peroxy, le radical alkoxy et le OH^\bullet par transfert d'hydrogène (**McCord, 1995**).

4. Composition chimique de l'huile essentielle

Les résultats obtenus par El Arch *et al.* (2003) sont montrés dans le Tableau (10). Les résultats des analyses chromatographiques ont permis d'identifier environ 32 composés dans l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* (récolté au Maroc). Le pulégone est le composé majoritaire de ces huiles avec un taux d'environ 85,5%. Ce composé est connu par son effet antimicrobien, antibactérien et antiviral (De Feo *et al.*, 1998). Le reste (14,5%) est constitué de monoterpènes et sesquiterpènes. On note la présence de l'acétate de menthyle avec environ 2% de menthone avec un pourcentage de 1% et de menthol avec un taux légèrement inférieur à 1,8. Ce dernier est très demandé dans l'aromatization des produits alimentaires (Clark *et al.*, 1998). Cependant, son faible taux (1,8%) handicape son utilisation industrielle. On signale que la pulégone peut être transformée en menthol par hémisynthèse (Ismaili – Alaoui *et al.*, 1997).

D'autres constituants sont présents en faible teneur : le limonène, le camphre et l'isopulégol sont détectés respectivement avec 0,62%, 0,64% et 0,66%. Les hydrocarbures sesquiterpéniques, tel que Z-caryophyllène, β -selinène, β -curcumène.....et sont aussi présents avec des pourcentages en générale inférieurs à 0,5 % (Tableau 10).

Les résultats obtenus par Aoudi *et al.*, 2020 sont montrés dans le tableau (11) : les résultats indiquent que l'huile essentielle de *M.rotundifolia* récolté dans le Nord-est de l'Algérie contient 30 composés identifiés constituant environ 95,51% du contenu total. Le profil de l'huile essentielle a été caractérisé par l'oxyde de pipériténone (46,06%), le D-limonène (9,10%), le cis oxyde de pipéritone (6,81%) et ando-bornéole (4,64%) (Aoudi *et al.*, 2020).

Tableau 10 : composition chimique de HE MR (El Arch et al., 2003)

IK	Composés	%
939	α -pinéne	0,22
981	trans-m-mentha-2,8-diéne	0,16
985	cis-m-mentha-2,8 diéne	0,34
991	myrcéne	0,28
1001	&-2 carène	0,13
1031	limonène	0,62
1040	Z- β -ociméne	0,33
1050	E- β -ociméne	0,22
1072	p-mentha-3.8 diène	0,20
1098	linalol	0,10
1102	cis-thujone	0,12
1118	myrcenol	0,39
1143	camphre	0,64
1154	menthone	1,03
1164	isomenthone	0,66
1173	menthol	1,77
1204	verbenone	0,11
1213	trans-pulégol	0,21
1237	pulégone	85,47
1252	pipéritone	0,20
1273	acétate d'isopulégol	0,28
1275	acétate de menthyle	1,96
1324	aldéhyde de limonène	0,85
1363	oxyde piperitone	0,14
1376	α -copaéne	0,14
1381	propanoate d'isobomyl	0,10
1391	β -éléméne	0,21
1404	Z-caryophylléne	0,39
1485	β -selinéne	0,24
1512	β -curcuméne	0,20
1535	Z-nerolidol	0,14
1538	α – cadinéne	0,42
Total		98,27

(IK : indice de Kovats)

Tableau 11 : composition chimique HE de (Aouadi et al., 2020)

IR	Composés	%
939	α -Pinéne	2,61
954	Camphéne	1,69
976	Sabinéne	0,91
978	Vinyl amyl carbinol	1,44
980	β -Pinéne	2,04
991	β -Myrcéne	1,39
995	β -Ociméne	0,27
1028	D-Limonéne	9,10
1033	1,8-Cinéole	0,45
1110	Amyl vinyl carbonyl acétate	0,67
1143	Camphre	0,57
1148	(R)-Lavandulol	0,26
1165	Endo-bornéol	4,64
1178	Terpinen-4-ol	0,35
1189	α -Terpinéol	0,82
1211	5-acétyl-2-hydrazino-4 Méthylpyrimidine	1,85
1261	Cis- oxide de pipéritone	6,81
1285	acétate de bornyle	0,52
1290	m-Thymol	0,37
1376	oxyde de pipéritone	46,06
1394	cis-Jasmine	2,47
1420	Caryophylléne	3,18
1454	α -Humulene	0,42
1458	trans- β -farnéséne	0,87
1475	α -Amorphéne	0,34
1485	Germacréne D	3,58
1513	γ -Cadinéne	0,46
1519	1S.cis-calaménéne	0,50
1592	Veridiflorol	0,47
1643	A-Cadinol	0,40
Total		95,51

(IR: indice de retentions)

Le résultat obtenu par El Arch et al. (2003) qui montre approximativement les mêmes caractéristiques chimiques des huiles essentielles de *Mentha pulegium* d'origine marocaine (Farah et al., 2001 ; Ismaili Alaoui et al., 1997) et *Mentha rotundifolia* de Tunisie (Hajlaoui et al., 2009), en effet, on constate que le pulégone est le constituant majoritaire de l'HE de *Mentha rotundifolia* de Maroc et Tunisie .La teneur en pulégone de l'HE de El Arch (85,75%) est

supérieur à celle observée chez la même plante originaire du Tunisie dans la teneur est de 47,15%.) (**Hajlaoui et al., 2009**).

Par contre **Derwiche et al. (2010)** ont trouvé que le constituant majoritaire d'HE de *Mentha rotundifolia* provenant du Maroc est le menthol (40,50%). Dans *M.rotundifolia* de l'Uruguay, le composant principal est l'oxyde de pipériténone (80,8%) (**Daniel et al., 2002**).

Brada et al. (2006) ont étudié la composition chimique de cette huile provenant de deux localités d'Algérie ; les constituants majoritaires étaient l'oxyde de pipéritéone (23,5 et 38 ,6%), oxyde de cis- pipéritone (28,1 et 30,5%) pour les régions de Rouina et Miliana, respectivement.

Cette divergence dans les résultats explique le rôle que peuvent jouer les facteurs environnementaux climatiques sur la composition biochimique et sur la qualité des extraits végétaux (**Laib, 2012**). Ainsi que les facteur qui concernent la plante tels que le génotype et les stades de maturation (**Shahat et al., 2011**).

5. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits (extrait méthanolique, extrait éthanolique et l'huile essentielle) a été évaluée avec différentes méthodes :

5.1. Test du piégeage des radicaux DPPH (**Bentoura, 2015**)

L'activité antioxydante des extraits (HE et l'extrait méthanolique) de *Mentha rotundifolia* .vis à vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie. En suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune mesurable à 515nm.

Les résultats indiquant que l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* présente une capacité de neutraliser le radical libre DPPH très puissante par rapport à l'huile essentielle.

L'étude comparative des IC₅₀ des extraits méthanoliques et éthanoliques de *Mentha rotundifolia* obtenus par différents auteurs (tableau12) montre que les valeurs de IC₅₀ varient entre 0,02171±0.0018 mg/ml et 0.70±0.03 mg/ml (Tableau 12).

Tableau 12 : Comparaison des IC₅₀ des différents résultats (méthode DPPH) des mêmes espèces (*M.rotundifolia*)

Espèces et provenance	Extraits	IC ₅₀ (mg/ml)	Référence
<i>M.rotundifolia</i> (El-Tarf)	Méthanolique	0.03166±0.00216 mg/ml	Benabdallah et al., 2016
<i>M rotundifolia</i> (Tlemcen)	Méthanolique	0.70±0.03 mg/ml	Seladji, 2015
<i>M .rotundifolia</i> (Sétif)	Méthanolique	0.0364±0.0011 mg/ml	Leblalta, 2018
<i>M.rotundifolia</i> (Iran)	Ethanolique	0,02171±0,0018) mg/ml	Nickavar et al. (2008)
<i>M.rotundifolia</i> (Bejaia)	Ethanolique	0,0713±0,0026 mg/ml	Brahmi et al. (2015)
<i>M.rotundifolia</i> (El hamdania)	Méthanolique	0.0585±0.0003 mg/ml	Bentoura., 2015
Quercétine (El Hamdania)	Témoin positif	0,0039±0,0000360 mg/ml	Bentoura., 2015
Rutine (El Hamdania)	Témoin positif	0,161±0,001 mg/ml	Bentoura., 2015

La valeur la plus faible de IC₅₀=0,02171±0.0018 mg/ml correspondant à la capacité antiradicalaire la plus importante a été enregistrée par **Nickavar et al., 2008**. Par contre, la valeur la plus élevée a été notée par **Seladji (2015)** (IC₅₀ = 0.70±0.03 mg/ml) qui signifie une capacité de piégeage de radicaux libre plus faible.

Des résultats comparables ont été obtenus par **Leblalta (2018)** (IC₅₀ = 0.0364±0.0011 mg/ml), **bentoura (2015)** (IC₅₀ = 0.0585±0.0003 mg/ml) et **Brahmi et al., (2015)** (IC₅₀ = 0,0713±0,0026 mg/ml).

Nous constatons que dans la majorité des études l'extrait méthanolique ou éthanolique ont exercé un effet antiradicalaire plus important que celui de la rutine (Tableau 12).

D'autre étude comparatifs des IC₅₀ des extraits méthanoique (0.0585±0.0003 mg/ml) de *Mentha rotundifolia* avec les IC₅₀ des valeurs du même ordre ont été obtenus dans les extraits d'autres espèces appartenant à la même famille de Lamiaceae : *Napta flavida* (**tep et al., 2007**), *calamintha sylvatica Bromf sub sp Asendens* (**Lopez et al., 2007**) avec des valeurs des IC₅₀ de l'ordre 0,063 mg/ml, et 0,058 mg/ml respectivement.

- Comparaison des valeurs d'IC₅₀ des huiles de la même espèce (Tableau 13) et du le même genre obtenues par la méthode de DPPH sont résumées dans le Tableau 13.

Tableau 13 : Activité antioxydant des HE de *M.rotundifolia* pour des différentes régions (méthode DPPH).

Espèce	IC ₅₀ (mg/ml)	Référence
<i>M .rotundifolia</i> (Tlemcen, Algérie)	0.30±0.14	Seladji., 2015
<i>M .rotundifolia</i> (Sétif .Algérie)	>0.1	Leblalta., 2018
<i>M .rotundifolia</i> (Rabat,Maroc)	1,62575	Bounihi., 2016
<i>M .rotundifolia</i> (Bizerte ,Tunisie)	0,02611	Riahi et al., 2013
La valeur obtenue de <i>mentha</i> (El Hamdania, Algérie)	1.421±0.04	Bentoura, 2015

Des niveaux d'activité antioxydante des huiles essentielles étudiés fluctuant entre 0,02 et 1,6 mg/ml ont été mise en évidence sur la base des tests utilisé avec des variations signification entre les sites.

La valeurs la plus faible de IC₅₀ = 0,02611 mg/ml correspondant la capacité antiradicalaire à la plus importante a été enregistrée par **Riahi et al., 2013**. Par contre, la valeur la plus élevée a été notée par **Bounihi, 2016** (IC₅₀ = 1,62575 mg/ml) qui signifie une capacité de piégeage de radicaux libre plus faible.

Des valeurs entrant dans la même gamme ont été obtenus par **Seladji, 2015** (IC₅₀ = 0.30±0.14 mg/ml), **Leblalta, 2018** (IC₅₀ = >0.1 mg/ml).

Dans une autre étude, le résultat obtenu par **bantoura (2015)** (1.421±0.04 mg/ml) a été comparé avec d'autre espèce du le même genre :

Les travaux concernant l'évaluation de la capacité d'huile essentielle du genre *Mentha* de piéger le radicale DPPH exprimée par les valeurs d'IC₅₀. ont donné des résultats différents variant d'une espèce à une autre : à savoir *M.longifolia* (IC₅₀=10,7±0,005 mg/ml) (**Gulluce et al., 2007**), *M.pulegium* (IC₅₀=6,2±0,0002 mg/ml)(**Teixera et al., 2012**). Ces activités sont faibles à celles enregistrées par **Bentoura, 2015**. Cette valeur enregistrée par **Bentoura, 2015** est supérieur a celle de *M.spicata* (0,00114 mg/ml), de *M.longifolia* (0,0240 mg/ml) et *M.piperita* (0,01332 mg/ml) en Iran (**Souri et al., 2003**).

D'autres espèces de la famille Lamiaceae (*Marrubium globosum subsp. Globosum*), étudiée par **Sarikurkcu et al. (2008)** ont donné une valeur d'IC₅₀ égale à 1,20338 mg/ml pour huile essentielle. Cette valeur correspond à la valeur obtenue par **Bentoura, 2015**.

Cette différence dans les valeurs des IC₅₀ peut être attribuée à la différence dans la concentration de DPPH utilisée dans le test et le temps d'incubation d'une part (**Sharma et al., 2009**).

5.2. Test du blanchissement du β-carotène/acide linoléique : (Benabdallah et al., 2016)

Dans ce système, les radicaux libres découlent de l'oxydation de l'acide linoléique qui attaque les molécules insaturées de la β-carotène, ce qui se traduit par une diminution importante de l'absorbance. En outre la présence de molécules antioxydants qui neutralisent les radicaux formés peuvent réduire le blanchissement de la β-carotène (**Godevac et al., 2008**).

L'activité antioxydant déterminé par β-émulsion de carotène /acide linoleique a été estimé en inhibant la formation des radicaux libres dans le β-carotène l'acide linoleique oxydé, qui a été estimé par spectrophotométrie, la diminution de la couleur orange caractéristique de β-carotène, est liée à la capacité inhibitrice de la formation des radicaux.

Le test de blanchissement du β-carotène montre également que le BHT est dotée d'une meilleure activité antioxydante avec une IC₅₀ relativement faible (0.0061±0.0008 mg/ml), et extrait méthanolique est moins active avec de IC₅₀ = 0.763±0.0007 mg/ml.

- Une comparatives des IC₅₀ de extrait méthanolique de *mentha rotundifolia* avec des IC₅₀ d'autre résultat de la même espèces (Tableau 14) et de la même famille de Lamiaceae :

Tableau14: comparaison des IC₅₀ de la méthode de blanchiment de β-carotène de l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* de différentes régions.

Espèces	Extraits	IC ₅₀ (mg /ml)	Références
<i>Mentha rotundifolia</i> Lala Setti (Tlemcen)	Extrait méthanolique	1.72±0.03 mg/ml	Seladji., 2015
<i>Mentha rotundifolia</i> , Tunisie		0.796±0.026 mg/ml	Ben Haj Yahia et al. (2019)
<i>Mentha rotundifolia</i> étudié (El-Tarf)		0.763±0.0007 mg/ml	Benabdallah et al., 2016

Dans une étude menée par **Benabdallah et al., 2016**, on a évalué l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la *Mentha rotundifolia* de la région El-Tarf par le test de blanchissement de la β - carotène ou on a trouvé $IC_{50} = 0.763 \pm 0.0007$ mg/ml . Cette valeur de IC_{50} est similaire à celle du résultat de l'extrait méthanolique obtenu par **Ben Haj Yahia et al., (2019)** ($IC_{50} = 0.796 \pm 0.026$ mg/ml), et elle est inférieure à celle enregistrée par **Seladji, 2015** ($IC_{50} = 1.72 \pm 0.03$ mg/ml) .

Ces résultats montrent que l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* possède un potentiel antioxydant important.

D'autres espèces de la même famille Lamiaceae ont été testées pour leur activité antioxydante par le test de blanchissement de β - carotène *Mentha longifolia* étudiée par **Kamara Zouari et al. (2018)** ont trouvés une $IC_{50} = 0.03475$ mg/ml est inférieure à celle obtenue par **Benabdallah et al., 2016**.

5.3. Activité de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe^{2+}) (**Lablata et al., 2018**)

L'activité chélatante des extraits est déterminée par le dosage de la ferrozine. La ferrozine peut former quantitativement des complexes avec Fe^{2+} . En présence d'autres agents chélatants, la formation du complexe est perturbée, ce qui entraîne une diminution de la couleur rouge du complexe.

Le témoin (EDTA) est le plus efficace ($IC_{50} = <0.5$ mg/ml), suivie de l'huile essentielle ($IC_{50} = 3.3 \pm 0.4$ mg/ml) et l'extrait méthanolique ($IC_{50} = 4.2 \pm 0.0$ mg/ml) avec un effet chélateur plus faible.

- Comparaison des IC_{50} de l'extrait méthanolique de *mentha rotundifolia* des différents travaux est présentée dans le tableau 15:

Tableau 15 : Comparaison des IC_{50} (méthode chélation de fer) de l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* de différentes régions.

Espèces	Extraits	IC_{50} (mg/ml)	Références
<i>Mentha rotundifolia</i> El-Tarf	Extrait méthanolique	1.3 ± 0.0006 mg/ml	Benabdallah et al., 2016
<i>Mentha rotundifolia</i> Djemila (Sétif)		3.417 ± 0.011 mg/ml	Ferdjioui, 2014
<i>Mentha rotundifolia</i> étudiée Chouf lakdad (sétif)		4.2 ± 0.0 mg/ml	Leblalta, 2018
EDTA	Témoin positif	<0.5 mg/ml	

Dans une étude menée par **Leblalta (2018)**, on a évaluée l'activité antioxydant de l'extrait méthanolique de la *Mentha rotundifolia* de la région Chouf lakdad (Sétif) par le test de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe^{2+}) la valeur de IC_{50} trouvée correspond à 4.2 ± 0.0 mg/ml. Cette valeur de IC_{50} est supérieure à celle du résultat de l'extrait méthanolique obtenir par **Ferdjioui, 2014** et **Benabdallah et al, 2016** avec IC_{50} (3.417 ± 0.011 mg/ml et 1.3 ± 0.0006 mg/ml).

Nous constatons que dans la majorité des études les extraits méthanoliques ont exercé un effet chélatant plus faible que celui de l'EDTA.

- Une comparatives des IC_{50} de l'huile essentielle de *mentha rotundifolia* avec des IC_{50} d'autre résultat de la même espèce (Tableau 16) et de la même famille de Lamiaceae :

Tableau16 : Comparaison des IC_{50} (méthode chélation de fer) de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*

Espèces	Extraits	IC_{50} (mg/ml)	Références
<i>M. rotundifolia</i> Djemila (Sétif)	L'huile essentielle	Aucune activité chélatrice	Ferdjioui ., 2014
<i>M. rotundifolia</i> Chouf lakdad (Sétif)		3.3 ± 0.4 mg/ml	Leblalta ., 2018

Dans une étude menée par **Leblalta, 2018** on a évalué l'activité antioxydant de l'huile essentielle de la *Mentha rotundifolia* de la région Chouf lakdad (Sétif) par le test de chélation des métaux sur les ions ferreux (Fe^{2+}) on a obtenue $IC_{50} = 3.3 \pm 0.4$ mg/ml. Ce résultat est différent de celui obtenir par **Ferdjioui, 2014**.

5.4. Test de pouvoir réducteur FRAP (Ferric reducing antioxydant power) (Ferdjioui., 2014)

C'est une analyse de l'activité antioxydant qui est basé sur la capacité des constituants des extraits à réduire le fer ferrique Fe^{+3} en fer ferreux Fe^{+2} . Les résultats représentés dans le tableau 17 :

Tableau 17: Résultats du test du pouvoir réducteur FRAP par différents extraits

Espèce	Echantillon	Résultats	Région et date de récolte	Référence
<i>M. rotundifolia</i>	L'huile essentielle	IC ₅₀ = 1.625±0.004 mg /ml	Djemila (Sétif) Octobre 2012	Ferdjioui, 2014
	Extrait méthanolique	IC ₅₀ =0.550±0,03613 mg/ml		
	BHA	IC ₅₀ =0,089± 0,0285 mg/ml		

Les valeurs des IC₅₀ obtenues dans ce test montrent que l'extrait méthanolique et l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia* possèdent une capacité réductrice importante mais elle est inférieure à celle de BHA. Cette activité démontre leur propriété de donation d'électrons et par conséquent leur capacité de neutraliser les radicaux libres.

L'extrait méthanolique (IC₅₀= 0.550±0,03613 mg/ml) présente le pouvoir de réduire l'ion Fe⁺³ le plus intéressant (le potentiel antioxydant le plus fort) que l'huile essentielle (IC₅₀ = 1.625±0.004 mg /ml).

Ces résultats pourront être expliqués que l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* présente un pouvoir réducteur important renferme des molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort.

Les agents réducteurs peuvent également réduire les intermédiaires oxydés du processus de la peroxydation lipidique (Sivakumar et Mreera, 2013) donc ils peuvent réagir comme des antioxydants primaires et secondaires (Misra et Dey, 2012).

Riahi et al., 2013 ont étudié l'activité des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* récoltée en Tunisie ; cette huile essentielle a montré une capacité réductrice avec une valeur d'IC₅₀ = 390,91±4,01 µmol/g (Bizerte) et 330,46±3,18 µmol/g (Beja).

Dans une étude faite par **sarikurkcu et al. (2008)** : les extraits de la plante *Marrubium globosum subsp* (Lamiaceae) ont montré une capacité réductrice avec une valeur d'IC₅₀ égale à 4,3158±0,00254 mg/ml et 0,62563±0,00102 mg/ml pour HE et extrait méthanolique respectivement, cette activité est semblée faiblement en comparaison de résultats obtenus par **Ferdjioui, 2014** pour l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*, et pour l'activité de l'extrait méthanolique sont convergents.

5.5. Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS»

Ce test est basé sur le mécanisme d'oxydoréduction de l'ABTS. Au cours de ce test le sel d'ABTS perd un électron pour former un radical cation (ABTS⁺) de couleur sombre en solution. En présence de l'agent antioxydant, le radical ainsi formé est réduit pour donner le cation ABTS⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution. (Muanda, 2010). Les résultats de ce test sont montrés dans le tableau 18.

Tableau 18: Les résultats du Test de la capacité antioxydante en équivalent Trolox ou «ABTS» par l'extrait éthanologique.

Espèce	Les extraits	Résultats	Région de récolte	Référence
<i>M.rotundifolia</i>	Extrait éthanologique	IC ₅₀ = 0.1589±0,0282 mg/ml	Iran (Tehran)	Nickivar et al., 2008
<i>M.rotundifolia</i>		IC ₅₀ = 0.0404±0.0007 mg /ml	Algérie (Bejaia)	Brahmi.F et al., 2015

Les résultats obtenus pour l'extrait éthanologique de la *Mentha rotundifolia* montrent qu'elle possède un bon pouvoir antioxydant. l'extrait éthanologique enregistré par Brahmi et al al., 2015 donne une concentration d'inhibition à 50% (IC₅₀=0.0404±0.0007 mg/ml) et l'extrait éthanologique déterminée par Nickivar et al., 2008 a une faible activité antioxydant avec IC₅₀= 0.1589±0,0282 mg/ml.

L'évaluation du potentiel antioxydant des espèces de genre *Mentha* vis-à-vis du ABTS⁺ montre que l'espèce *M.pulegium* a le plus grand pouvoir antioxydante (IC₅₀=0,15260±0,0272 mg/ml) suivie par *M.piperit* (IC₅₀=0,15380±0,0291 mg/ml), *M.rotundifolia* (IC₅₀= 0,15890±0,0282 mg/ml), *M.spicata* (IC₅₀=0,17380±0,0604 mg/ml), *M.longifolia* (IC₅₀= 0 ,18560±0,0441 mg/ml) (Nickavar et al.,2008).

Les résultats de l'activité antioxydants du test de ABTS sont (IC₅₀=0.0404±0.0007 mg /ml), (IC₅₀= 0,0302±0,0006 mg /ml) et (0,0103±0,0009 mg /ml) pour l'extrait éthanologique de *M.rotundifolia* (MR), *M.pulegium* (MP) et *M.spicata* (MS) respectivement. Les résultat en TEAC montre clairement que l'espèce *Mentha spicata* présente le pouvoir antioxydant le plus puissant suivie par MP et MR (Brahmi et al., 2015) .

6. Discussion générale

Selon les résultats trouvés à travers les cinq tests pour évaluer l'activité antioxydants des extraits de *Mentha rotundifolia*, on peut résumer dans ces points qu'avec:

- ✓ **Le teste de DPPH** : Le DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante en raison de sa stabilité en forme radicale libre et la simplicité de l'analyse. L'activité la plus élevée a été présentée par l'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* ($IC_{50} = 0.0585 \pm 0.0003$ mg/ml) enregistrée par **Bentoura (2015)**. Dans cette plante à la teneur en phénol totaux est de l'ordre $111,21 \pm 4,90$ mg EAG/g et de $6,68 \pm 0,88$ mg EQ/g pour les flavonoïdes.
- ✓ **Le teste du β -carotène/acide linoléique** : L'extrait méthanolique de *Mentha rotundifolia* a manifesté la plus forte aptitude à inhiber la formation des radicaux par l'acide linolique avec une valeur $IC_{50} = 0,763$ mg/ml enregistrées par **Benabdallah al., (2016)**.
- ✓ **La méthode de chélation par les ions ferreux**: L'activité chélatante la plus élevée est observée dans l'huile essentielle ($IC_{50} = 3,3 \pm 0,4$ mg/g) enregistré par **Lablalta (2018)**.
- ✓ **le test FRAP** : Extrait méthanolique a présenté un bon pouvoir réducteur ($IC_{50} = 0,550 \pm 0,03613$ mg/ml) enregistré par **Ferdjioui (2014)**.
- ✓ **Le test de ABTS⁺** : L'extrait éthanolique de *Mentha rotundifolia* donne une grande Activité antioxydante, $IC_{50} = 0,15890$ mg/ml, enregistré par **Nickivar et al. (2008)**.

Les études sur les extraits des différentes espèces végétales montrent que la famille des Lamiaceae possède les activité antioxydantes les plus fortes (**Lamaison et Petitjeanfretet, 1996 ; Shan et al., 2005 ; Zheng et Wang , 2001**). Dans cette famille, le genre *Mentha* est représenté par six espèces principales : *M.rotundifolia*, *M.longifolia*, *M.Spicata*, *M.aquatic*, *M.pulegium* et *M.Piperita* selon la flore de l'Algérie de **Quezel et Santa (1963)**.

En générale les extraits méthanoïques et éthanoliques de *Mentha rotundifolia* exercent un potentiel antioxydant plus importants que huile essentielle.

Les extraits méthanoliques ont montré un effet antiradicalaire (DPPH), pouvoir réducteur (FRAP) plus important que l'effet du blanchissement du β - carotène et chélatante du fer ferreux.

Ces résultats obtenus suggèrent que l'activité antioxydant des extraits méthanolique de *Mentha rotundifolia* peut être corrélée avec leur teneur en composés phénoliques.

Ces composés sont des constituants des plantes très importants connus comme substances antioxydante ayant la capacité de piéger les espèces radicalaires et les formes réactives de

l'oxygène (**kelly et al., 2002**) ou prévenir la décomposition des hydroperoxydes en radicaux libres (**Pokorny, 2001**).

Nickavar (2008) a également remarqué que l'activité antioxydante des l'extraits de *Mentha Sp* est en relation étroite avec la teneur en composé phénolique, ce qui confirme que les phénols sont essentiellement responsable de l'effet antiradicalaire d'où l'activité antioxydant. Même observation a été relevée par **Dorman et al. (2003)**, qui a étudié la composition et l'activité antioxydants des extraits aqueux des espèces hybrides, variétés et cultivars du genre *Mentha Sp*.

La forte corrélation entre les valeurs de concentration en phénols dans les extraits de plantes et l'activité antioxydante est documentée **Borneo et al. (2008)** ; **waheed et al. (2014)**; **Benabdallah et al. (2016)** . A ce regarde, **Luximun-Ramma et al. (2002)**. Du plus, a capacités antioxydante peut être attribuées à la structure chimiques des composés, ainsi qu'à l'effet synergique ou antagoniste des composés présentes dans l'extrait brute (**Al-Owaisi et al., 2014**).

D'autre part, le coefficients de corrélation entre la teneur en phénol totaux et l'activité antioxydante de *Mentha rotundifolia* suggère que l'activité antioxydante est fortement corrélée à la teneur en tannins et polyphénols et faiblement corrélée aux flavonoides (**Benabdallah et al., 2016**).

Brahimi et al. (2015), qui ont travaillé sur les extraits éthanoliques de deux espèces de menthe, a rapporté que *Mentha pulegium* (6,1 mg EAG/g. 0,85 EQ /g avec un IC₅₀) était plus riche que *mentha rotundifolia* (4,6 EAG/g. 3,3 EQ /g) pour les composés phénolique, les mêmes auteurs ont révélé que l'activité antioxydante des extraits éthanoliques de *Mentha pulegium* plus élevée par rapport à celle des extraits de *Mentha rotundifolia*. L'activité antioxydante des polyphénols est principalement due à leur capacité à agir comme donneurs d'hydrogène, agents réducteurs et piègeurs de radicaux (**Mai et al., 2009**).

Cependant, les informations issues de la littérature concernant la teneur phénolique du genre *Mentha* sont généralement dispersées à travers les articles et informations requise sont difficiles à comparer à cause des déférences entre les méthodes utilisées (**Brahmi et al., 2015**).

L'huiles essentielles montrent un pouvoir antiradicalaire DPPH et pouvoir réducteur FRAP) plus importante que l'effet chélateur du fer ferreux.

L'activité antioxydante des huiles essentielles peut être attribuée à leur composition chimique (**Dewiche et al., 2011**) qui est déterminée par le génotype et influencée par les conditions environnementales et agronomiques (**Burt, 2004**). La relation entre l'activité antioxydante et leur profils chimique a été rapportée (**Barra et al., 2010**) . En général, les

activités antioxydants des huiles essentielles végétales ont été attribuées à leurs principaux composés (**Riahi et al., 2013**). Ainsi, le niveau de l'activité antioxydant pour les espèces de *Mentha rotundifolia* peut être attribué principalement à la concentration en composants majeurs qui sont la pulégone, l'oxyde de pipériténone, carvanol (**Riahi et al., 2013**). De plus, selon **Mimica et al. (2003)**, les composés de piégeage les plus puissants seraient les cétones.

Selon **Wang et al. (2008)**, les composés mineurs et majeurs devraient apporter une contribution significative à l'activité de l'huile qui est le résultat de l'interaction de leur composition chimique.

D'après **Halliwell (1994)**, les mécanismes d'action d'un antioxydant peuvent comprendre : le piégeage direct des radicaux libres, l'inhibition des enzymes et la chélation des traces métalliques responsables de production des radicaux libre et protection des systèmes de défense antioxydant. Ce qui montre que les extraits méthanoliques de *Mentha rotundifolia* possèdent un grand potentiel comme source d'antioxydants naturels. Selon **kamkar et al. (2010)**, les extraits polaires des espèces de *Mentha* ont montré une meilleure activité que les huiles essentielles.

Par conséquent, la variation de l'activité antioxydante entre l'espèce de *Mentha rotundifolia* et les autres espèces du genre *Mentha* en général, d'après notre observation dans cette étude, pourrait être expliquée par leur contenu richesse en composés phénoliques.

Les données de littérature sur les activités antioxydantes des espèces de *Mentha* sont souvent difficiles à comparer en raison des différences dans les méthodologies suivies (**Moldovane et al., 2014**).

Conclusion

La connaissance et l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques sont un véritable héritage de l'homme. Son importance en santé publique s'est considérablement accrue ces dernières décennies grâce aux traitements qu'elle propose.

Cette diversité de propriété biologique est définitivement associée à des vertus curatives attribuées à un ensemble exceptionnel de molécules biologiquement actives, fabriquées par les plantes, non seulement comme agents chimiques contre les maladies, herbivores et prédatrices mais aussi comme antioxydants. Ces molécules naturelles sont très nécessaires dans les plantes médicinales pour les effets secondaires des médicaments et les séquelles nocives des molécules chimiques synthétiques.

Notre étude a été menée pour objectif principale la valorisation et la contribution à une meilleure connaissance d'une plante communément utilisée en médecine.

Mentha rotundifolia, poussant à l'état spontané dans la région de Bouin a été récolté durant la période avant la floraison au mois de février.

Différents extraits ont été préparés à partir des feuilles de *Mentha rotundifolia* : extrait méthanolique et l'huile essentielles selon différentes méthodes d'extraction.

La méthode d'hydrodistillation, qui est la méthode préférée pour l'extraction de huiles essentielles à partir des feuilles de *Mentha rotundifolia*, nous a permis de montrer que la plante donne un rendement de l'ordre de 0.4 ± 0.126 .

De plus, l'étude phytochimique des feuilles de *Mentha rotundifolia* a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires tels que : les tanins, les tanins galliques, les flavonoïdes, les mucilages et les alcaloïdes.

En raison des circonstances survenues en raison de la pandémie de COVID-19, nous n'avons pas pu terminer notre travail expérimental, nous avons donc utilisé plusieurs autres études qui se sont intéressées à l'évaluation de l'activité antioxydante de la plante de *Mentha rotundifolia*.

Grâce à cette étude, nous avons constaté que le dosage de flavonoïdes et des polyphénols totaux a donné des teneurs variables en fonction de l'origine géographique de la plante et en fonction des extraits. Les teneurs des polyphénols totaux variaient entre $350,10 \pm 0,96$ mg GAE/g et $4,6 \pm 0,1$ mg GAR/g et les teneurs en flavonoïdes variaient entre $79,44 \pm 0,76$ mg QE/g et $3,3 \pm 0,1$ mg QE/g.

La plupart des méthodes adoptées par les différents auteurs pour déterminer l'activité antioxydante des extraits de la plante de *Mentha rotundifolia* : l'effet piègeur du radical DPPH est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité

antioxydante en raison de la simplicité de l'analyse, le pouvoir réducteur (méthode FRAP), l'effet chélation du fer ferreux, et le test du blanchissement de β -carotène et le test de ABTS. Il s'est avéré que les extraits méthanoliques de *Mentha rotundifolia* exercent un potentiel antioxydant plus important que celui exercé par huile essentielle.

Les extraits méthanoliques ont manifestées un effet antiradicalaire (DPPH), un pouvoir réducteur (FRAP) plus importants que l'effet chélateur du fer ferreux et qualitatif du blanchissement du β -carotène. Une corrélation positive entre la teneur de polyphénols et l'activité antioxydante des extraits méthanoliques a été observée à travers les études menées par les différents auteurs.

L'huile essentielle a montrent un pouvoir antiradicalaire DPPH et pouvoir réducteur (FRAP) plus importants que l'effet chélateur du fer ferreux. L'activité de l'huile suggère la contribution d'autres composés chimiques.

A partir de ces résultats, nous pouvons suggérer que *Mentha rotundifolia*, pourrai constituée une source naturelle et prometteuse de molécules chimique qui pourraient avoir des activités biologique très importantes. Il serait intéressant de compléter ce travaille par :

- Utilisation d'autre méthodes d'extraction avec d'autre solvants organiques et passer au fonctionnement des différents classes de métabolites.
- Déterminer la composition chimique des différents extraits par les méthodes chromatographique (HPLC, CCM.....).
- Approfondir les recherches sur les bienfaits pharmacologiques de l'espèce de *Mentha rotundifolia*.
- Analyse des activités in vitro et in vivo pour évaluer les différentes propriétés : antioxydant, anti-inflammatoire, antimicrobiennes... etc.

Références bibliographiques

A

- **Afnor. (2000).** Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1) Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2.Volumes 1et 2).
- **Alfonso-prieto M ., Biarnés X., Vidossich P.,Rovira. (2009).** The Molecule mechanism of the catalase Reaction. J.AM.Chen, Soc, 131, 11751-11761.
- **Al-Owaisi M., Al-Hadiwi N., Khan SA. (2014).** GC-MS analysis, determination of total phenolics, flavonoid content and free radical scavenging activities of various crude extracts of *Moringa peregrina* (Forssk.) Fiori leaves. *Asian Pac J Trop Biomed* :4(12): 964-970 .
- **Ali S.I., El-Baz F.K., El-Emary G.A., Khan E.A., Mohamed A.A. (2014).** HPLC-analysis of polyphenolic compounds and free radical scavenging activity of pomegranate fruit (*Punica granatum* L.). International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, vol 6, no 4, p. 348-55.
- **Amzouar S., Boughdad A., Maatoui., Allam,L., (2016).** Comparaison de la composition chimique et l'activité insecticide des huiles essentielles de *Mentha suaveolens* Ehrh. Prélevées de deux régions différentes du Maroc contre *Bruchus rufimanus* (Bohman) (Coleoptera: Chrysomelidae), Vol(18), p 836-845.
- **André,R.(1998)** . La maladie de parkinson .Ed . Masson .16-19.
- **Aouadi G ., Haouel S., Soltani A ., Maha Ben Abada., Boushah E., Elkahoui S., Taibi F., Mediouni J., Jemâa B., Bennadja S.(2020).** Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) *Journal of Plant Diseases and Protection* (2020) 127:471–482. <https://doi.org/10.1007/s41348-020-00340-y>.
- **Avato P., Sgarra G., Casadoro G. (1995).** Chemical composition of the essential oils of *Mentha species* cultivated in Italy. *Sci. Pharm.* 63: 223-230.
- **Avissar N., Whitin J.C., and Allen P.Z. (1989).** Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *Biol. Chem.* 2: 15850-15855.
- **Ayoughi F., Barzegar M., Sahari M. A., Naghdibadi H. (2011)**.Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of their Antioxidative Effects *J. Agr. Sci. Tech.* Vol. 13: 79-88.

B

- **Badiaga M. (2011).** Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de *Nauclea Latifolia* Smith une plante médicinale africaine récoltée au Mali. Thèse de doctorat . université de Bamako . Faculté des Sciences et techniques, 137 P .
- **Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M. (2008).** Biological effects of essential oils--a review. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 46, 446– 475. doi:10.1016/j.fct.2007.09.106.
- **Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., Cabras, P., Angioni, A. (2010).** Chemical variability, antifungal and antioxidant activity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil from Sardinia. *Nat. Prod. Commun.* 5, 329–335.
- **Barros L., Heleno S.A., Carvalho A.M. and Ferreira I.C.R. (2010).** Lamiaceae often used in portuguese folk medicine as a source of powerful antioxidants: vitamins and phenolics. *Food Science and Technology* 43: 544-550.
- **Beauquesne B., Pinkas M., Torik., Tortin,F.(1980).** plantes médicinales des régions tempérées. Ed, Maloine.
- **Beecher G.R. (1999).** In antioxidant food supplements in human health. In: Packer L, Hiramatsu M, Yoshikawa T (eds) Academic Press, New York.
- **Benabdallah A., Rahmoune C., Boumendjel M., Aissi O., Messaoud C. (2016).** Total phenolic content and antioxidant activity of six wild *Mentha* species (Lamiaceae) from northeast of Algeria. *Asian Pac J Trop Biomed.* 6(9). <http://dx.doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.06.016>
- **Benabdallah A. (2017).** Etude écophysiological, développement et importance des plantes médicinales du genre *Mentha* dans le Parc National d'El-Kala (Nord-Est Algérie), diplôme de Doctorat, Univ : Mentouri Constantine 1, Constantine).
- **Benayad N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines: moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche. Faculté des Sciences de Rabat, Université Mohammed V – Agdal, Maroc. 1-59. 165.
- **Benchabane A. (1991).** L'utilisation de quelques labiées dans la médecine traditionnelle chez les berbères de l'assif l'Erdouz (haut atlas du Maroc) *Rev. Fac. Mar.* 5, pp82, 94.
- **Benckman K. B. and Ames, B. N. (1998)** . the free radical theory of aging matures . *Physiol. Rev.* (78) : 541-581.

- **Benhamou N., Bekkar FA., Panovska Tk. (2008).** Les activités antioxydantes et antimicrobiennes du lentisque pistachier et atlantica pistacia extraits .Afr .J.Pharm Pharmacol, vol 2 :22-28.
- **Ben Haj Yahia ., Yosr Zaouali ., Maria Letizia Ciavatta ., Alessia Ligresti .Rym Jaouadi ., Mohamed Boussaid., Adele Cutignano .(2019).** Polyphenolic Profiling, Quantitative Assessment and Biological Activities of Tunisian Native Mentha rotundifolia (L.) Huds. Molecules , 24, 2351.
- **Bentoura S. (2015).** Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante a caractère thérapeutique ,*Mentha rotundifolia*). Mémoire de magister Université Blida 1 ; Faculté des sciences de la Nature et de la vie.
- **Berger M. (2006).** Manipulation nutritionnelle du stress oxydant : état des connaissances .Nutrition Clinique et Métabolisme ,20 :50-57.
- **Bezzaz. (2014).** Détermination structurale des métabolites secondaires, et extraction des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magistère. Université M'sila. Faculté des Sciences .Département de Chimie, p 72.
- **Bloomer RJ and Fisher-Wellman KH. (2008).** Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. Gender Medicine. 5(3) pp 218-28. (Thèse de doctorat ; Université Abou bakr belkaid -2014 .
- **Bonnef-Rousselot D. and Collin F. (2010).** Melatonin: action as antioxidant and potential applications in human disease and aging. *Toxicology*, 278; 55-67
- **Bouhadjra K. (2011).** étude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. *Thèse pour l'obtention du diplôme de magister.* Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou.
- **Bounihi A. (2016).** Criblage phytochimique, Etude Toxicologique et Valorisation Pharmacologique de Melissa officinalis et Mentha rotundifolia (Lamiacées). Thèse de doctorat Université Mohamed V. Faculté de Médecine et de pharmacie Rabat ,199 p.
- **Boussouf ., Boutennoune H ., Kebieche M., Adjeroud N., Al-Qaoud k., K.Madani .(2017).** Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian Mentha rotundifolia L. leaves on experimental animals. *South African Journal of Botany* 113 (2017) 77–83.
- **Bouyer T. (1996).** Description d'une nouvelle espèce de Maltagore a bouyer.,1993 (*Lepidoptera, Satumiidae*). Bulletin et annales de la Société royale belge d'Entomologie.132 : 3-5.

- **Borneo R, Leon EA, Aguirre A, Ribotta P, Cantero J.J. (2008).** Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and there *in vitro* testing in model food system. *Food Chem.* **112**: 664-670.
- **Botineau M. (2010).** Botanique systématique et appliqué des plantes à fleurs .Tech.Et Doc (eds). 1021p.
- **Brada M., Bezzina M., Marlier M., Lognay G.C. (2006).** Chemical composition of the leaf oil of *Mentha Rotundifolia* (L.) From Algeria *J. Essent. Oil Res.* **18**: 663–665.
- **Brada M., Bezzina M., Marlier M., Carlier A., Lognay G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha Rotundifolia* du nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement.* **11(1)** : 3-7.
- **Brahmi F, Hauchard D, Guendouze N, Madani K, Kiendrebeogo M, Kamagaju L, Stévigny C, Chibane M, Duez P.(2015)** .Phenolic composition, *in vitro* antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M.spicata* (L.), *M.pulegium* (L.) and *M.rotundifolia* (L.) Huds (*Lamiaceae*). *Industrial Crops and Products.* **74**:722–730 .
- **Brahmi, F., Adjouad, A., Marongiu, B., Porcedda, S., Piras, A., Falconieri, D., Yalaoui-Guellal, D., Elsebai, M-F., Madani, K., Chibane, M. (2016).** Chemical composition and *in vitro* antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Ind.Crops.Prod.* **88**, 96-105. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.03.002>.
- **Brahmi F., Khodir M., Chibane M., Pierre D. (2017).** Chemical composition and biological activities of *mentha species*. *Aromatic and Medicinal Plants - Back to Nature.* 47-79.
- **Brahmi F., Hadj-Ahmed S., Zarrouk A., Bezine M., Nury T., Madani K., Chibane M., Vejux A., Andreoletti P., Boulekbache-Makhlouf L., Lizard G. (2017).** Evidence of biological activity of *Mentha* species extracts on apoptotic and autophagic targets on murine RAW264.7 and human U937 monocytic cells. *Pharmaceutical Biology.* **55** (1): 286-293.
- **Browne RW., Bloom MS., Schisterman EF., Hovey K., Trevisan M., Wu C., Liu A, Wactawski-Wende J. (2008)** . Analytical and biological variation of biomarkers oxidative stress during the menstrual cycle. *Biomarkers.* **13(2)**: pp 160-83.
- **Bruneton. (1999)** :« pharmacognosie, phaytochimie, plantes médicinales » edition Tec & Doc , Paris, éditions médicinale internationales,pp :483-560 .

- **Burt S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

C

- **Chen G.N., Wang, M.S., Wu, C.L., Lin, J.K. (2004).** Comparaison of radical scavenging activity, Cytotoxic and apoptosis induction in human melanoma cells by Taiwanese propolis from different sources, *CAM* 1(2), pp 175-185.
- **Clark G.S. (1998).** *Menthol. Perfumer and Flavorist.* 23, 33-46.
- **Clemente S., Mareggiani G., Broussali A., Martino V., Ferraro G. (2003).** Insecticidal effects of lamiaceae species against stored products insects. *Bol Sanidad vegetal plagas.* 29 :1-8.
- **Coene I. (2004).** Les antioxydants et l'alimentation, nutrition information center NICE, Symposium, 23 Octobre 2004, Bruxelles, Belgique. *Nutrinews*, N°4.
- **Cole G.M., Lim G.P., Yang F., Teter B., Begum A., Ma Q., Harris-White M.C. Frautschy A. (2005).** Prevention of Alzheimer's disease: omega-3 fatty acid and phenolic antioxidant interventions. *Neurobiol. Aging.* 26, 133–136.
- **Coui-Marinier F, Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine, actualités pharmaceutique 525 :12-21 .

D

- **Damien Dormana H.J., Koser M., Kahlos K., Holm Y., Hiltunen R. (2003).** Antioxydant properties and Composition of aqueous Extracts from *Mentha* Species, Hybrids, Varieties and Cultivars. *J. Agric. food Chem.* 51, P. 4563-4569.
- **Daniel, Lorenzo, Daniel, Paz, Eduardo, Dellacassa, P. Davies, R. Villa and S. Canigual. (2002).** Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* From Uruguay. *Braz. Arch. Biol and Technol*, 45: 519-524.
- **Deba F., Dang Xuan T., Yasuda M., et Tawata S. (2008).** Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata*. *Food Control.* 19: 346-352. *Phytother. Res.* 16: 727-731.
- **Decker, E.A., & Welch, B. (1990).** Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 38 (3), 674-677.

- **De Feo V. A. Riccardi & F. Senatore. (1998).** Chemical composition and antimicrobial screening of the essential oil of *Minthostachys verticil/ala* (Griseb) Epling. *J. Essential Oil Re.* 10, 61-65.
- **De la Torre C.P., Torres O.A.(1977).** Aceite esencial de *Mentha rotundifolia*. *Arch. Bioquim. Quim. Farm.* 20: 85-88.
- **Derwiche E., Benziane Z., Taouil R., Senhaji O and Touzani M. (2010).** Comparative Essential oil Composition of Leaves of *Mentha rotundifolia* and *mentha pulegium* a Traditional Herbal Medicine in morocco ; Am . Eurasian J. Sustain. Agric. 4(1): 47-54.
- **Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A.,(2011).** Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentharotundifolia* from Morocco. *Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.*, 9 (1): 19-28.
- **Diallo M.A. (2003).** Contribution à l'étude de la composition en polyphénols de *Tephrosia pedicellata*.bak. Mémoire de DEA de chimie et biochimie des produits naturels. Université Cheikh Anta Diop Dakar, Sénégal.
- **Diallo D. (2006).** « Ethno pharmacological Survey of medicinal plants in mali and photochemical study of four of them : *Glinus oppositifolius* (Azoaceae), *Diopyros abyssimica* (Ebenaceae), *Entada Africana* (Mimosacea) , *Trichillia emetica* , (Meliaceae)» thèse de doctorat de recherche , faculté des sciences de l'université .De Lausanne, suisse.
- **Djeridane A., Yous fififi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P., Vidal N. (2006).** Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry* 97, 654 – 660.
- **Dorman H.J. D., Kosar M., Kahlos K., Holm Y., Hiltunen R. (2003).** Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from *Mentha* species, hybrids, varieties, and cultivars. *J. Agric. Food Chem:* 51:4563–4569. DOI: 10.1021/jf034108k.
- **Doutté et Gautier. (1913).** « enquête sur la dispersion de la langue berbère en Algérie» pp 14-15.

E

- **Ebrahimzadeh MA., Nabavi SF., Nabavi SM., Eslami B. (2010).** Antioxidant and antihemolytic activities of *Mentha piperita*. *Pharmacologyonline*; 1:744-752.
- **El Arch M., Satrani B., Farah A., Bennani L., Boriky D., Fechtal M., Blaghen, M., Talbi M. (2003).** Composition chimique et activites antimicrobienne et insecticide de l'huile

essentielle de *Mentha rotundifolia* du Maroc. *Acta Bot. Gallica* 150, 267–274.
<http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2003.10515996>.

- **Elhariti A., Elhabchi S., Hichar A., Omar B., Ounine K. (2015).** Antagonistic activity of endophytic bacteria isolated from *Mentha rotundifolia* L. *International Journal of Scientific & Technology Research*, volume 4, issue 12 36-39.

F

- **Falleh H., Ksouri R., Chaieb K., Karray-Bouraoui N., Trabelsi N., Boulaaba M., Abdelly C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara Cardunculus* L. Organs, and their biological activities. *Compte Rendu de Biologie*. **331** : 372-379.
- **Farah A. M. Fechtal & A. Afifi. (2001).** Valorisation des huiles essentielles de la menthe pouliot (*Mentha pulegium*). *Ann. Rech. Forest. Maroc*. 34, 76-86.
- **Favier A. (2003).** Le stress oxydant. Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique* .108-115.
- **Ferdjoui S. (2014).** Activités antioxydante et antimicrobienne des extraits méthanoliques et de l'huile essentielle de la plante *Mentha rotundifolia*. Mémoire de magister, Université Ferhat Abbas-sétif-1- Faculté des Sciences de la Nature et de la vie.
- **Ferreria A., Proenca C., Serralheiro M.L.M., Araujo M.E.M.(2006).** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plant from Portugal. *Journal of ethnopharmacology*. 108 : 31-37.
- **Foyer C.H., Trebst A., Noctor G. (2008).** Signaling and integration of defense functions of tocopherol, ascorbate and glutathione. In: photoprotection, photoinhibition, gene regulation and environment. *Springer Science Business Media*. pp; 241-268.

G

- **Galambosi B., Aflatuni A., Sorvari K. (1998).** Effect of cultivation techniques on mint oils in northern Finland. *Perfum. Flavor*. 23 : 27-31.
- **Gardès-Albert M., Dominique Bonnefont-Rousselot., Zohreh Abedinzadeh Z et Daniel Jore D. (2003).** Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique*. Pp : 91-96.

- **Gholivand M. B., Rahimi-Nasrabadi M., Batooli H. and Ebrahimabadi A. H. (2010).** Chemical composition and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of *Psammogeton Canescens*. *Food chemical toxicology* **48**: 24-28.
- **Godevac, D., Zdunic, G., Savikin, K., Vajs, V. & Menkovic, N. (2008).** Antioxidant activity of nine Fabaceae species growing in Serbia and Montenegro. *Fitoterapia*, *79*, 185 – 187.
- **Guessan N., Kadja N.G., Zihiri. Traoré et Akessi L. (2009).** « Screening phytochimique de quelques plantes médicinales Ivoiriennes, utilisées en pays Krobou (Agboville, cote d'Ivoire) » *Science et Nature* (1) .pp 1-15.
- **Guignard J.L. (1979).** Abrégé De Biochimie Végétale. 2ème Ed Masson. Paris. Thèse de doctorat ; Université Abd bekr Belkaid telemcen.
- **Gulcin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A., et Elias R. (2003).** Antioxidant activity of isolated from ivy: alpha-hederin, hederasaponin-C, hederacolchiside-E and hederacolchiside-F. *Planta Medica*. *70*: 561-563.
- **Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A. and Ozkan H. (2007).** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. Longifolia*. *Food Chemistry* **103**: 1449-1456.

H

- **Hadouche N. (2011).** « Etude et analyse des plantes algériennes *Artemisia campestris* et *Mentha rotundifolia* » .Mémoire d'ingénieur d'état eb génie des procédés.
- **Haddouche F et Benmansour A. (2008).**Article de synthèse: Huiles essentielles et activités biologiques, Application à deux plantes aromatiques. *Journal les technologies de laboratoire* N°8.
- **Hajlaoui H., Trabelsi N., Noumi E., Snoussi M., Fallah H., Ksouri R., et Bakhrouf A. (2009).** Biological activities of the essential oils and methanol extract of tow cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. *25*: 2227–2238.
- **Halliwell B. Gutteridge J.M.C. (1989).** Free radicals in biology and medicine, 2nd edn. Clarendon Press, Oxford.

- **Halliwell B. (1994).** Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews* 52, 253-265.
- **Halliwell B. (1995).** Antioxidant characterization; methodology and mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 49, 1341–134.
- **Harborne J.B., Baxter H., Moss G.P. (1999).** Phytochemical dictionary: handbook of bioactive compounds from plants, 2nd edn. Taylor and Francis, London.
- **Harley R.M., França F., Santos E.P., Santos J.S. (2010).** Lamiaceae. In : Catálogo de plantas fungos do Brasil, Vol 2. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro., 1130-1146p.
- **Hendriks H., Van Os F.H.L. (1976).** Essential oils of two chemotypes of *Mentha suaveolens* during ontogenesis. *Phytochemistry*,.15 : 1127-1130.
- **Hendriks H.,Van Os FHL. (1976).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2007 11 (1), 3–7.
- **Hilan C., Sfeir R., Jawich D., Aitour S. (2006).** Huiles essentielles de certaines plantes médicinales libanaises de la famille des Lamiaceae. *Journal Scientifique Libanais.* 7:13-22p.
- **Hodek P., Trefil P., Stiborova M. (2002).** Flavonoids-Potent and versatile biologically active compounds interacting with cytochromes P450. *Chimico-Biological Interaction.* 139: 1-21.
- **Horrison. (2000).** Association entre le polymorphisme des enzymes antioxydants et la physiologie du diabète type 1 chez la population Algérienne. Thèse de doctorat Université Des Sciences et de la technologie Houari Boumediene, Faculté des sciences Biologique. P 28.
- **Howes M.J.R. Perry N.S.L., Houghton P.J. (2003).** Plants with traditional uses and activities relevant to the management of Alzheimer's disease and other cognitive disorders, *Phytother. Res.*, 17, 1-18.
- **Hubert A.J. (2006).** Caractérisation biochimique et propriétés biologiques des micronutriments du germe de Soja. Etude des voies de sa valorisation en nutrition et santé humaine. Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse, école doctoral des sciences écologiques, vétérinaires, agronomiques et bioingénieries, spécialité : qualité et sécurité des aliments. pp. 174.
- **Huet et Duranteau. (2008).** Dysfonction endothéliale : rôle des radicaux libres. *Reanimation* 17, 387-392.

- **Hu J.P., Calomme M., Lasure A., De Bruyne T., Peters L., Vlietinck A., Van den Berghe D.A. (1995).** Structure–activity relationship of flavonoids with superoxide scavenging activity. *Biol. Trace Element. Res.*, 47, 327–331.
- **Husain S.R., Cillard J., Cillard P. (1987).** Hydroxyl radical-scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry*. 26, 2489–2491.

I

- **Isrine P., Masson M., Restellini J.P. (1997).** Encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation, soin, Larousse-Bordas, 1997.
- **ISERIN P., MASSON M., RESTELLINI J.P. (2007).** Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins. Ed. Larousse, Paris. France. 335 p.
- **Ismaili Alaoui M., B. Benjlali & R. Azerad. (1997).** Application des biotransformations à la valorisation des plantes aromatiques. In : *Actes du Congrès international sur les plantes aromatiques et leurs huiles essentielles*. B. Benjlali, M. Ettalibi, M. Ismaili Alaoui & S. Zrira (eds). 349-362.

J

- **Jacquot J.P., Dietz K.J., Rouhier N., Meux E., Lallement P.A., Selles B. and Hecker A. (2013).** Redox regulation in plants: glutathione and “redoxin” related families. In: *Oxidative stress and redox regulation*. Springer Science Business Media Dordrecht. pp; 213-291.

K

- **Kalt C. (2000).** Agriculture et agroalimentaire Canada, Centre de recherches de l'Atlanique sur les éléments de l'horticulture, Kentville, N. E. B4N 1J5.
- **Kamkar A., Javan A.J., Asadi F., Kamalinejad M. (2010).** The antioxidative effect of Iranian *Mentha pulegium* extracts and essential oil in sunflower oil. *Food Chem. Toxicol.* 48 (7), 1796–1800. DOI: 10.1016/j.fct.2010.04.003
- **Kanatt, S. R., Chander, R. and Sharma, A. (2008).** Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *Food Chem.*, 107(2): 845-852.
- **Karama Zouari - boussida et al. (2018).** Seasonal Variation in Essential Oils Composition and the Biological and pharmaceutical Protective Effects of *Mentha Longifolia* Leaves Grown in Tunisia, P.O. Box 1177, 3018 sfax, Tunisia.
- **Kay T.W.H. Thomas H.E. Harrison L. (2000).** The Beta cell in autoimmune diabetes: Many Mechanisms and pathway of loss 11, 11-15.

- **Kelly E.H., Anthony R.T. and Dennis J.B., (2002).** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 572-584.
- **Khadraoui A., Khelifa A., Hamitouche H., Mehdaoui R. (2014).** Inhibitive effect by extract of *Mentha rotundifolia* leaves on the corrosion of steel in 1 M HCl solution. *Research on Chemical Intermediates*. 40 : 961-972.
- **Khalidi A., Meddah B., Moussaoui A., Benmehdi H. (2012).** Screening phytochimique et effet antifongique de certains extraits de plantes sur le développement *in vitro* des moisissures. *European Journal of Scientific Research* **80(3)**: 311-321.
- **Kirschvink N., de Moffarts B., Lekeux P.(2008)** . The oxidant/antioxidant equilibrium in horses. *The Veterinary Journal*. Vol.177; pp 178–191.
- **Kokkini S., Papageorgiou V. (1988).** Constituents of essential oils from *Mentha rotundifolia* growing wild in Greece. *Planta Med.* 54: 166-167.
- **Kokkini S., Papageorgiou VP. (1988).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2007 **11** (1), 3–7.
- **Kokkini S., Vokou D. (1989).** *Mentha spicata* (Lamiaceae) chemotypes growing wild in Greece. *Econ. Bot.* 4 : 192-202.

L

- **Lablata A. (2018).** Activité insecticide et antifongique des extraits et de l'huile essentielle de *Mentha rotundifolia*. *Thèse de doctorat*, Université Ferhat Abbas-sétif-1- Faculté des Sciences de la Nature et de la vie.
- **Ladjel S., Gherraf N., and Hamada D. (2011).** Antimicrobial effect of essential oils from the Algerian Medicinal plant *Mentha rotundifolia* L. *Journal of Applied Sciences Research*. **7(11)** : 1665-1667.
- **Laib I. (2012).** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Nature & Technologie* **7**: 44 -52.
- **Lamaison J.L., et Petitjeanfreytet C. 1996.** Medicinal Lamiaceae with antioxidant activity, potential sources of rosmarinic acid. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*. 66: 185–188 .

- **Lawrence B. (1978).** A study of the monoterpene interrelations in the genus *Mentha* with special reference to the origin of pulegone and menthofuran? Phd Thesis, Rijks Universiteit, Groningen.
- **Lawrence MB., Mint. (2007).** The genus *Mentha*. Medicinal and aromatic plants-Industrial profiles. CRC Press Taylor and Francis group, 556 p.
- **Lehbab. (2013).** etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *mentha rotundifolia* L. (Domrane) de la région de Tlemcen Composition chimique des huiles essentielles. mémoire de master en biologie .université Abbou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- **Le père G .Huyghe. (1907).** « Dictionnaire chaoui , arabe, Kabyle, français»,P225.
- **Lehbab A. (2013).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits de *mentha rotundifolia* L. (Domrane) de la région de Tlemcen Composition chimique des huiles essentielles. mémoire de master en biologie .université Abbou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- **Leitao et al. (2002).** «Quick preparative, separation of natural Naphthopyranones with antioxidant activity by high- speed counter chromatographe Z .Nature. Food, pp 105-1055.
- **Linné. (1762).** «Activité insecticide et antifongique des extraits et de l'huile essentielles de *Mentha rotundifolia*», Thèse de doctorat. Université de Ferhat abbas Sétif. Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, 41 P.
- **Liu R.H. (2003).** Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.* 78, 517 –520.
- **Lonn M.E., Dennis J.M., Stocker R. (2012).** Actions of antioxidants in the protection against atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine.* 53; 863-884.
- **Lopez V ., AKreeta S., Casanova E., Garcia-mina J.M ., Yolanda, Cavero R., Calvo Maria. (2007).** In vitro antioxidant and anti-rhizopus activité of lamiaceae herbal extracts. *Plant Foods For Human Nutrition*, 62, pp 151-155.
- **Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E., Davies P., Vila R., Canigueral S. (2002).** Essential Oils Of *Mentha Pulegium* And *Mentha Rotundifolia* From Uruguay. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 45 : 519-524.
- **Lorenzo D., Paz D., Dellacassa E., Davies P., Vila R., Canigueral S. (2002).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie . *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2007. 11 (1), 3–7.

- **Luximun-Ramma A, Bahorun T, Soobrattee MA, Aruomai OI. (2002).** Antioxidant activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid components in extracts of *Cassia fistula*. *J. Agric. Food Chem*; **50**:5042–5047.

M

- **Maamri S. (2008)** .étude de pastacia atlantica de deux régions de sud algérienne dosages des lipides. Dosages des polyphénols, essais antileishmaniens .université de m'hamed Bougera Boumerdes.
- **Mac Laren D. (2007).** Advances in sports and exercise science series. Nutrition and Sport. 8. Antioxidants and free radicals by Close GL and Mc Ardle F. Elsevier.
- **Maffei M. (1988).** Achemotype of *Mentha longifolia* (L.) Hudson particularly rich in Piperitenone Oxide. *Flav.Frag. J.* **3** : 23-26.
- **Mai T ., Fumie N., Chuyen NV. (2009).** Antioxidant activities and hypolipidemic effects of an aqueousextract from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) merr. and perry. *Journal of FoodBiochemistry*; **33**:790–807.
- **Majhenic L., Kerget M.S., Knez Z. (2007).** Antioxidant and antimicrobial activity of Guarana seed extracts. *Food Chemistry.* **104** : 1258–1268.
- **Marfek A. (2003).** Radiolyse gamma des flavonoids. Etude de leur réactivité avec les radicaux libres issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- **Mata, A.T., Proenc, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M.(2007).** Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem.* 103, 778–786.
- **McCord J.M. (1995).** Superoxide radical: Controversies, contradictions and paradox. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.*202:112-117.
- **Merouane A., Noui A., Medjahed H., Nedjari benhadj ali K., Saadi A. (2014).** Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8 (4): 1865-1870.
- **Miguel M.G. (2010).** Antioxydant and anti-inflammatory activities of essential oils :A short Review *Molecule*,15 :9252-9287p.

- **Miliauskas G., Venskutonis P.R., et Van Beek T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extract. *Food chemistry*. 85: 231-237.
- **Mimica-Dukic,N., Bozin B., Sokovic M., Mihajlovic B., Matavul, M. (2003).** Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils. *Planta Med.* 69, 413–419.
- **Misra L.N., Tyagi B.R., Thakur R.S.(1989).** Chemotypic variation in Indian spearmint. *Planta Med.* 55: 575-576.
- **Misra B. B. and Dey S. (2012).** Phytochemical analyses and evaluation of antioxidant efficacy of *in vitro* Callus Extract of East Indian Sandalwood Tree (*Santalum album L.*) *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1(3): 7-16.
- **Mohammedi Z. (2013).** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud ouest de l'Algérie. Thèse de doctorat en biologie. Université Abou Bekr Belkaid. Algérie.
- **Mohemmedi Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Thèse pour l'obtention du diplôme de magister Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen.
- **Moldoven R.I., Oprean R., Benedec D.,Hanganu D.,Duma M.,Oniga I., Vlas L. (2014).** LC-MS analysis, Antioxydante and antimicrobial activities for five species of *Mentha* cultivates in Romania .*Digest journal of Nanomaterials and Biostructures*. Vol. 9,No .2,p .559-566 .
- **Molyneux P. (2004).** The use of the stable free radical diphenyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of science technology*. 26(2): 211-219.
- **Montagnier L., Olivier R., Pasquier C. (1988).** Oxidative stress in cancer, AIDS and neurodegenerative diseases. New York :Marcel Dekker .(These de doctorat Tlemcen).
- **Moutinho C. (2013).** Antispasmodic activity of aqueous extracts from *Mentha piperita* native from Trás-os-Montes region (Portugal). *International Journal of Indigenous Medicinal Plants* 29(1): 1167-1174.
- **Muanda. (2010).** Identification de polyphenols, evaluation de leur activité antioxydante et étude de leur propriétés biologiques. Thèse de doctorat. l'Université Paul Verlaine-Metz ,186 p.

N

- **Nasrine Benayad. (2008).** les huiles essentielles extraites des plantes médicinales, p 04.
- **Nickavar B, Alinaghi A and Kamalinejad M. (2008).** Evaluation of the Antioxidant Properties of Five Mentha Species. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* **7(3)**: 203-209.

O

- **Orhan E. I, Senol F. S., Ercetin T., Kahraman A., Celep F., Akaydin G., Sener B., and Dogan M. (2013)** . Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (*Salvia*) species with their total phenol and flavonoid contents. *Industrial Crops and Products* **41**, 21-30.
- **Osman I. H. (2013).** In Vitro Antioxidant activity of *Mentha pulegium* from Saudi Arabia. *Bioscience Research* **10(1)**: 33-37.
- **Ounissi , M.S.,**« Dictionnaire chaoui » Français-arabe,121p.
- **Ouzmil H., Ghoulami S., Rhajaoui M., Iidirissi A., Fkih-Tetouani S., Faid M., Benjouad A. (2002).** Antibacterial and antifungal activity of essential oils of *Mentha suaveolens*. *Phytother. Res.* **16** : 727-731.
- **Oyaizu M. (1986).** Thèse doctorat :Etude phytochimique , activité antioxydant et microbiennes des extraits de cinq plantes médicinales . Université Abobekr Balkaid Temcen.

P

- **Page., M.,et W.T.,Stearn.(1990).** « plantes aromatiques ». (Ed), Bornemann , Paris.
- **Papa L., Manfredi G. and Germain D. (2014).** SOD1, an unexpected novel target for cancer therapy. *Genes and Cancer*, **5** (1-2); 15-21.
- **Peng C., Wang X., Chen J., Jiao R., Wang L., Li Y.M., Zuo Y., Liu Y., Lei L., Ma K.Y., Huang Y. and Chen Z.Y. (2014).** Antioxidants biology of ageing and role of dietary. *BioMed Research International*, ID 831841; 1-13.
- **Perez Raya MD., Utrilla MP., Navarro MC., Jiménez J. (1990).** CNS activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha longifolia* essential oil in Mice and Rats. *Phytother. Res.* **4** : 232-234.
- **Pincemail J., Bonjeau K., Cayeux K., Defraigne J.O. (2002).** Mécanisme physiologiques de la défense antioxydante. *Nutr. Clin. Metab.* **16**,233-239.

- **Pino J.A., Rosado A., Fuentes V. (1996).** Chemical composition of the essential oil of *Mentha pulegium* L. from Cuba. *J. Essent. Oil Res.* **8** : 295-296
- **Podsedek A. (2007).** Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Food Science and Technology.* 40:1-11.
- **Pokorny J (2001).** Antioxydants in food: practical applications, Introduction. In Pokorny J, Yanishlieva Y, Gordon M.H eds, pp.1-3.
- **Powers SK., Smuder A.J, Kavazis AN., Hudson MB. (2010).** Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation on exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism.* Vol. 20; pp 2–14.

Q

- **Quezel P. and Santa S. (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Editions du centre national de la recherche scientifique: Paris (France). pp. 34, 132.

R

- **Re R, Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M and Rice-Evans C. (1999).** Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol. Med.* 26: 1231-1237.
- **Riboli E., Norat T. (2003).** Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Am. J. Clin. Nutr.* 78, 559 –569.
- **Riahi, L., Elferchichi M., Ghazghazi H., Jebali J., Ziadi S., Aouadhi,C., Chograni H., Zaouali Y., Zoghlami N., Mliki A. (2013).** Phytochemistry: antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Ind. Crop. Prod.* 49, 883–889.
- **Robak J., Gryglewski R.J. (1998).** Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.*, 1, 37, 837-841.
- **Roginsky V., et Lissi E.A. (2005).** Review of method to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food Chemistry.* 92: 235-254.

S

- **Salido M. and Rosado J.A. (2009).** Apoptosis: involvement of oxidative stress and intracellular Ca^{2+} homeostasis genes. *Springer Science and Business Media*. pp: 1-17.
- **Sanchez-Moreno C. (2002).** Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *International Journal of Food Science and Technology*. 8: 121-137.
- **Sarikurkcü C., Tepe B., Daferera D., Polissiou M. and Harmandar M. (2008).** Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum subsp. globosum* (Lamiaceae) by three different chemical assays. *Bioresource Technology* **99**: 4239-4246.
- **Sayre LM., Moreira PI., Smith MA., Perry G.(2008).** Metal ions and oxidative protein modification in neurological disease. *Ann Ist Super Sanità*. Vol. 41(2). pp 143-164.
- **Schultz J.C.(1988).** Tannin-insect interactions, P. 553 .In R.W .Hemingway and J.J. Karchesy (ed), *Chemistry and significance of condensed tannins*. Plenum Press, New York, N.Y .
- **Seladji M., Belmekki N., Ekhechi C., Bendimerad N.(2014).** Antioxidant and Antimicrobial Activity of Aqueous and Methanolic Extracts of *Mentha rotundifolia L.* From Algria. *Int. J. pharm .Sci .Rev .Res.*, 228-234.
- **Seladji. (2015)** .Thèse doctorat : Etude phytochimique, activité antioxydant et microbiennes des extraits de cinq plantes médicinales. Université Abobekr Balkaid Temcen.
- **Shahat A. A., Ibrahim A.Y., Hendawy S. F., Omer E. A., Hammouda F. M, Abdel-Rahman F. H. and Saleh M. A. (2012).** Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules* **16**: 1366-1377.
- **Shan B., Cai Y.Z., Sun M., et Corke H. (2005).** Antioxidant capacity of 26 spice extracts and characterization of their phenolic constituents. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*.53: 7749–7759.
- **Sharma O. P., Bhat T. K. (2009).** DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* **113**: 1202-1205.
- **Shon M.Y., Kim T.H., et Sung N.J. (2003).** Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*. 82: 593-597.
- **Sies H. (1993).** Strategies of antioxidant defence. *Eur. J. Biochem*. 215, 213–219.

- **Sivakumar C. H. V. and Meera I. (2013).** Antioxidant and Biological Activities of Three Morphotypes of *Murraya koenigii* L. from Uttarakhand. *Food Processing & Technology* 4(7): 1-7.
- **Sorg O. (2004).** Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality. *Comptes Rendus Biologies.* 327; 649-662.
- **Souri E ., Gholamreza A .,Farsam H ., Jalalizadeh H .,Barezi S.(2003).** Screening of thirteen medicinal plant extracts for antioxidant .Iran . J.Pharm .Resp,7 (2), pp 149-154.

T

- **Takahama U. (1984).** Hydrogen peroxide dependent oxidation of quercetin by intact spinach chloroplasts. *Plant Physiol.*, 74, 852–857.
- **Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Batista, I. Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Saraiva, J. A. and Nunes, M. L. (2012).** European pennyroyal (*Menthapulegium*) from Portugal: chemical composition of essential oil and antioxidant and antimicrobial properties of extracts and essential oil. *Ind.Crops Prod.*, 36(1): 81-87.
- **Tepe B., Daferera D., Tepe A.S., Sokmen A., et Polissiou M. (2007).** Antioxidant activity of the essential oil and variation extracts of *Neptaflavida* Hub-Mor .From Turkey. *Food Chemistry*, 103 ,PP 1358-1364 .
- **Tokarz P., Kaarniranta K. and Blasiak J. (2013).** Role of antioxidant enzymes and small molecular weight antioxidants in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Biogerontology.* 14; 461-482.
- **Toussaint B. (2008).** Oxygene et stress oxydants, Faculte de Medcine de Greenble (UJF). Universite Jose Ph. Furier. 19 p.
- **Tripathi A.K .,Prajapati V.,Ahmad A .,Aggarwal K.K.,Khanuja S .P.S.(2004).** Piperitenone oxide as Toxic, Reppellent and Reproduction Retardant Toward Malarial Vector *Anopheles Stephensi* (Diptera : Anophelinae) .J.Med .Entomol . 41(4), p .691—698.
- **Trivalle C. (2002).** Gérontologie préventive : élément de prévention du vieillissement pathologique ; Ed : MASSON (PARIS) . p : 104-106.

V

- **Valko M., Leibfritz D., Moncola J., Cronin M.T.D., Mazura, M. & Telser, J. (2007).** Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39: 44 - 84.

- **Venskutonis P.R. (1996).** A chemotype of *Mentha longilia* L. from Lituania rich in Piperitenone Oxide. *J. Essent. Oil Res.* **8** : 91-95.
- **Vertuani S., Angusti A., Manfredini S. (2004).** The antioxidants and pro-antioxidants network; an overview. *Curr. Pharm. Des.* **10**, 1677-1694.

W

- **Waheed I, Ahmed M, Syed NH, Ashraf R. (2014).** Investigation of phytochemical and antioxidant properties of methanol extract and fractions of *Ballota limbata* (Lamiaceae). *Indian J Pharm Sci.* **76**(3): 251-256.
- **Wang, S.Y., Chen, C.T., Sciarappa, W., Wang, C.Y., Camp, M.J. (2008).** Fruit quality, antioxidant capacity and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 5788–5794.
- **Willem J.P. (2005).** « Aroma famille : 100 petits maux de la vie quotidienne traités par les huiles essentielles », Albin Michel, Paris, 13p.
- **W .U,Y., Beecher G ., Holden R ., Haytowitz M., Guebherdt S.E., Prior S.L .(2004).** Lipophilic and hydrophilic antioxydant capacity of common foods in ths United States « Agriculture and food .chem, 52. PP 4026-4037.

Y

- **Yifan Yang. (2010).** Chinese Herbal Formulas Treatment Principles and Strategies, Elsevier.

Z

- **Zhao G.R., Xiang Z.J., Ye T.Y., Yuan Y.J., Guo Z.X. (2007).** Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. *Food Chemistry.* vol 99, no 4, p. 767-774.
- **Zheng W., et Wang S.Y.(2001).** Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *Journal of Agriculture and Food Chemistry.* **49**: 5165–5170.
- **Zekri N., Amalic S ., Boughdadm A., Alaoui et Belghiti Zair, T .(2013) .**« phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulgégium* L. Frome Morocco against *Sitophilus oryzae* » ,Mediter . *Journal of chemistry* .2 (4), pp 604- 619.
- **Ziech D., Franco R., Georgakilas A.G., Georgakila S., Malamou-Mitsi V., Schoneveld O., Pappa A. and Panayiotidis M.I. (2010).** The role of reactive oxygen species and oxidative stress in environmental and carcinogenesis and biomarker development. *Chemico-Biological Interactions.* **188**; 334-339.

Annexes

Annexe 01 : Appareillage.

Clévanger

Vortex

Blance de précision

Evaporateur rotatif

Autoclave

Chauffe ballon

Autoclave

Agitateur magnétique

Annexe 02 :

Ballon, Erlenmeyer

Béchers, Eppendorfs

Papier aluminium, Papier filtre

Etiquettes, Seringue

Tube à essai, Barreau magnitique

Produits chimiques :

Ammoniaque

Solution de $FeCl_3$

Formol

Acétate de sodium

HCL , Magnesium (Mg)

Méthanol et l'eau distillée

Alcool isomylique.

Acide sulfurique

Réactif de drangendorff

