

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignements Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université M'hamed Bougara Boumerdes

Département : Génie des procédés

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master

En Génie Alimentaire

## THEME

Préparation et caractérisation d'un extrait hydroéthanolique à potentiel antistressant à partir des plantes médicinales (*Mentha piperita* L, *Lavandula stoechas* L, *Chamaemelum nobile* L). Essai de modélisation et d'optimisation par le plan d'expériences de mélange

Préparé par :-M<sup>elle</sup>Zani Hania.

-M<sup>elle</sup>Ben Mahdi Soumia.

Encadré par : M.TRACHI M.

2020 -2021

## **Remerciements**

*Avant toute chose, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur « **TRACHI M** » maître de conférence à la faculté de technologie, Université M'hamed Bougara, d'avoir accepté de nous encadrer, nous le remercions pour sa disponibilité et son aide tout le long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.*

*Nous remercions les techniciennes et de laboratoire de département de Génie de procédés et en particulier Mme Bouizeri, pour nous avoir aidé et fourni tout les équipements nécessaire.*

*Un grand merci aux membres des Laboratoire, ainsi que toutes nos amies de la promotion, pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.*

*Nous remercions également toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

## Dédicace

Je dédie mon travail à :

Les plus chères dans ma vie mes parents

Mes sœurs **Houda**, et **Meriem**. Mes frères **Islam** et surtout **Yacine** pour leur soutien moralement.

Toutes mes amies surtout : **Rima**, **Saliha**, **Hafsa**, **Sonia** et **Farida**...et tous mes collègues de la promotion de M2 GA.

Je dédie mon travail aussi à :

Mon binôme **Zani Hanía** est la bénédiction d'un ami et d'un compagnon. Merci de m'avoir porté.

**SOUUMIA**

## DEDICASE

ET me voilà-t-il pas une occasion pour dire quelques mots en guise de reconnaissance pour tous celles et ceux qui sans cesse veillaient jusqu'à l'aube pour qu'aujourd'hui nous soyons là à toi maman merci, à toi mon père, rien qu'en regardant dans tes yeux je devine l'amour sans limite que tu me réserves merci aussi.

A mes frères Ilyes, Hichem, et ma sœur Abla.

A mes amies (Farida, Fatma, Rima, Nassiba et Hanane.....) et mon amie qui m'encouragee toujours (SOUMIA AMIROCHE).

A mon binôme Ben Mahdi SOUMIA pour tous les moments de joie et de peine qui a passé ensemble et sa famille.

Hania

## Résumé :

Notre étude porte sur la préparation et la caractérisation d'un extrait hydroéthanolique tri-composé à caractère antistressant obtenu à partir de trois plantes médicinales qui sont la camomille (*Chamaemelum nobile* L), la menthe (*Mentha piperita* L), la lavande (*Lavandula stoechas* L), et connues, en Algérie, par leur utilisation traditionnelle contre le stress. Après une caractérisation physicochimique effectuée sur les plantes, une modélisation et optimisation de l'activité antioxydante a été procédée en utilisant le plan d'expérience de mélange dans lequel a été sélectionné le plan « simplexe-réseau ». D'après la caractérisation physicochimique, une richesse remarquable en composés phénoliques a été constatée, notamment pour la lavande qui contient environ 375 mg/100 g. La proportion en flavonoïdes pour les trois plantes dépasse les 80% du total des composés phénoliques. Le plan d'expériences de mélangea permis de modéliser l'extrait éthanolique dû de la combinaison des trois plantes sélectionnées selon l'équation suivante :  $PR = 1,807 A + 2,509 B + 1,964 C - 0,526 A.B + 3,802 A.C - 1,738. B.C + 2,957. A.B.C$  et d'optimisation le mélange selon les constituants suivants : 0,479 pour la lavande et 0,520 pour la camomille. L'extrait final des propriétés antioxydantes intéressantes traduites par une richesse en polyphénols dans lesquels les flavonoïdes représentent plus de 90% et un pouvoir réducteur dépassant celui de l'acide gallique.

**Mots clé :** camomille, menthe, lavande, modélisation, optimisation, oxydation, plan de mélange, plantes médicinales, stress.

## ملخص:

تركز دراستنا على تحضير وتوصيف مستخلص هيدروإيثانولي ثلاثي المركب مع مضاد للإجهاد تم الحصول عليه من ثلاثة نباتات طبية وهي البابونج (*Chamaemelum nobile* L) والنعناع (*Mentha piperita* L) والخزامى (*Lavandula stoechas* L) والمعروف الجزائر لاستخدامها التقليدي ضد الإجهاد. بعد إجراء توصيف فيزيائي كيميائي على النباتات، تم إجراء نمذجة وتحسين النشاط المضاد للأكسدة باستخدام خطة تجربة الخلط التي تم فيها اختيار خطة "الشبكة البسيطة". وفقاً للتوصيف الفيزيائي الكيميائي، لوحظ ثراء ملحوظ في المركبات الفينولية، خاصةً اللافندر الذي يحتوي على ما يقرب من 375 مجم / 100 جم. تزيد نسبة مركبات الفلافونويد للنباتات الثلاثة عن 80% من إجمالي المركبات الفينولية. سمح التصميم التجريبي للخلط بنمذجة المستخلص الإيثانولي الناتج عن توليفة النباتات الثلاثة المختارة

وفقاً للمعادلة التالية.  $PR = 1.807 A + 2.509 B + 1.964 C - 0.526 A.B + 3.802 A.C - 1.738$ .  
و أمثل الخليط وفقاً للمكونات التالية: 0.479 للخزامى و 0.520 للبابونج. يحتوي المستخلص النهائي  
على خصائص مضادة للأكسدة مثيرة للاهتمام مترجمة بغنى مادة البوليفينول التي تمثل فيها مركبات الفلافونويد أكثر من  
90% وقدرة مختزلة تفوق تلك الموجودة في حمض الغاليك.

**الكلمات المفتاحية:** البابونج ، النعناع ، الخزامى ، النمذجة ، التحسين ، الأكسدة ، خطة الخلط ، النباتات الطبية ،

الإجهاد.

### **Abstract:**

Our study focuses on the preparation and characterization of a tri-compound hydroethanolic extract with anti-stress obtained from three medicinal plants which are chamomile (*Chamaemelum nobile* L), mint (*Mentha piperita* L), lavender (*Lavandula stoechas* L), and known in Algeria for their traditional use against stress. After a physicochemical characterization carried out on the plants, a modeling and optimization of the antioxidant activity was carried out using the mixing experiment plan in which the "simplex-network" plan was selected. According to the physicochemical characterization, a remarkable richness in phenolic compounds was observed, in particular for lavender which contains approximately 375 mg / 100 g. The proportion of flavonoids for the three plants exceeds 80% of the total phenolic compounds. The mixing experimental design allowed to model the ethanolic extract due from the combination of the three selected plants according to the following equation:  $PR = 1.807 A + 2.509 B + 1.964 C - 0.526 A.B + 3.802 A.C - 1.738$ .  $B.C + 2.957$ .  $A.B.C$  and optimization the mixture according to the following constituents: 0.479 for lavender and 0.520 for chamomile. The final extract has interesting antioxidant properties translated by a richness in polyphenols in which the flavonoids represent more than 90% and a reducing power exceeding that of gallic acid.

**Keywords:** chamomile, mint, lavender, modeling, optimization, oxidation, mixing plan, medicinal plants, stress.

## Liste des Figures

### Chapitre I : généralités sur les plantes médicinales

<b>Figure 1</b> : La répartition de la Menthe dans le monde.....	<b>6</b>
<b>Figure 2</b> : Répartition géographique de <i>Chamaemelum nobile</i> L.....	<b>8</b>

### Partie expérimentale

#### Matériel et méthodes

<b>Figure1</b> : Plantes utilisées dans notre étude.....	<b>17</b>
<b>Figure2</b> : Principe de la détermination de l'angle de repos.....	<b>19</b>
<b>Figure3</b> : Etapes d'extraction des polyphénols.....	<b>23</b>

#### Résultats et discussion

<b>Figure1</b> : Densité réelle, densité apparente et porosité des différentes poudres analysées.....	<b>30</b>
<b>Figure2</b> : Mouillabilité des poudres analysées.....	<b>31</b>
<b>Figure 3</b> : Propriétés d'écoulement de poudres préparées.....	<b>32</b>
<b>Figure4</b> : Teneur en eau et en matières solides des trois poudres analysées.....	<b>32</b>
<b>Figure5</b> : Quantités en matières organiques et minérales des poudres analysées.....	<b>33</b>
<b>Figure 6</b> : Acidité des poudres analysées.....	<b>34</b>
<b>Figure 7</b> : Concentration en composés phénoliques .....	<b>35</b>
<b>Figure 8</b> : Activité antioxydante des plantes analysées.....	<b>35</b>
<b>Figure 9</b> : Contours de la surface de réponse estimée.....	<b>38</b>
<b>Figure 10</b> : Composés phénoliques de l'extrait final.....	<b>40</b>
<b>Figure 11</b> : Activité antioxydante de notre extrait.....	<b>40</b>

## Liste des Tableaux

### Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales

<b>Tableau 1</b> : Classification botanique de la <i>Mentha piperita</i> L .....	<b>7</b>
<b>Tableau 2</b> : Position taxonomique de <i>chamaemelum nobil</i> L.....	<b>8</b>
<b>Tableau 3</b> : Constituants chimiques de <i>chamaemelum nobil</i> L.....	<b>9</b>

### Matériel et méthodes

<b>Tableau 1</b> : Préparation de la dilution de l'acide gallique.....	<b>24</b>
<b>Tableau 2</b> : Matrice d'expériences.....	<b>26</b>

### Résultats et discussion

<b>Tableau 1</b> : Matrice d'essais avec les réponses obtenues.....	<b>36</b>
<b>Tableau 2</b> : ANOVA pour le pouvoir réducteur.....	<b>36</b>
<b>Tableau 3</b> : Résultats du modèle spécial cubique ajusté pour PR.....	<b>37</b>
<b>Tableau 4</b> : Valeurs optimal du mélange selon le modèle « spécial-cubique »..	<b>38</b>
<b>Tableau 5</b> : Quelques propriétés physicochimique de l'extrait hydroéthanolique optimisé par le plan de mélange 'Simplexe-réseau' .....	<b>38</b>

# **Sommaire**

## Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
Résumé	
Liste des Figures et Tableaux	
Introduction générale	1
<b>Revue bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales</b>	
1. Définition	5
2. Généralités sur la famille des Lamiacées	5
3. Le genre menthe	5
4. La réparation Menthe par le monde	6
4.1. Les espèces de menthe	6
4.2. <i>Mentha piperita</i> L	7
4.2.1. Présentation de <i>Mentha piperita</i> L	7
4.2.2. Classification botanique place « <i>Mentha piperita</i> L »	7
5. Généralité sur la famille des Astéracées	7
5.1. La grande camomille « <i>Chamaemelum nobile</i> L»	8
5.1.1. Dénomination	8
5.1.2. Classification	8
5.1.3. Répartition géographique	8
5.1.4. Composition chimique	9
6. Le genre <i>Lavandula stoechas</i> L :	9
6.1. Nomenclature de la plante :	9
6.2. Description botanique de la lavande	10
6.3. Composition chimique du genre <i>Lavandula</i>	10
<b>Chapitre II : Le Stress oxydatif</b>	
1. Définition de stress	12
2. Les types de stress	12
3. Les causes de stress	13

## PARTIE EXPERIMENTALE

### Matériel et Méthodes

1. Plantes médicinales utilisées	17
2. Préparation des plantes médicinales	17
3. Caractérisation de la poudre des plantes	18
3.1. Caractérisation physique	18
3.1.1. Masse volumique et porosité	19
3.1.2. Détermination de l'indice d'écoulement (angle de repos)	20
3.1.3. Détermination l'indice de mouillabilité	20
3.2. Caractérisation physicochimique	20
3.2.1. Détermination des teneurs en eau et matière sèches (AFNOR, 1982)	21
3.2.2. Déterminer du pH (AFNOR 36-16.)	22
3.2.3. Détermination de l'acidité titrable (AFNOR.1982)	22
3.2.4. Détermination de la teneur en cendres (AFNOR NF 04-201 ,1980)	23
4. Extraction et dosage des polyphénols	23
4.1. Extraction des polyphénols	23
4.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux	24
4.2. Extraction des flavonoïdes	25
4.2.1. Détermination de la teneur de flavonoïde	25
5. Préparation des différents extraits hydroéthanoliques	25
5.1. Détermination du pouvoir réducteur	26
6. Modélisation de plan d'expériences	27
7. Préparation de l'extrait hydroalcoolique final	27
7.1. Caractérisation de l'extrait hydroalcoolique final	27
7.1.1. °Brix	27
7.1.2. Conductivité	28
7.1.3. Teneur en phénoliques totaux	28
7.2. Activité antioxydante	28
8. Analyses statistiques des résultats	28
<b>Résultats et discussion</b>	
1. Caractérisation physique de la poudre	30
1.1. Densité et porosité	30
1.2. Indice de mouillabilité	31
1.3. Indice de l'écoulement	31
2. Caractérisation physicochimique	32

2.1. Teneur en eau	32
2.2. Teneur en cendres	33
2.3. Activité potentielle et titrable	33
3. Propriétés antioxydantes	34
3.1. Teneur en composés polyphénolique totaux	34
3.2. Activité antioxydante	35
4. Modélisation et optimisation par le plan de mélange ‘Simplexe-réseau’	36
4.1. Matrice d’essais du mélange par le plan d’expérience	36
4.2. Modélisation et optimisation du mélange	36
4.2.1. Analyses statistiques du plan	36
4.2.3. Modélisation du mélange	37
4.2.4. Optimisation de la réponse (PR)	37
5. Caractérisation de l’extrait hydroéthanolique final	38
5.1. Acidité de l’extrait	38
5.2. °Brix	39
6. Propriétés antioxydantes	39
6.1. Taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes totaux	39
6.2. Pouvoir réducteur	40
<b>Conclusion générale</b>	<b>42</b>

## **Références Bibliographiques**

## **Annexes**

# **Introduction Générale**

Les plantes sont une source immense de molécules chimiques complexes exploitées par l'homme dans plusieurs industries telle que l'industrie cosmétique, l'industrie agroalimentaire et l'industrie pharmaceutique.

L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations, dans toutes les régions du monde. L'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médicinal dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires (**Bahadur et al., 2010**).

En effet, une plante est dite médicinale lorsque l'un de ses organes par exemple la feuille possède des activités pharmacologiques pouvant conduire à des emplois thérapeutiques.

La flore Algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Certaines de ces espèces sont endémiques ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable (**Gaussen, 1982**).

L'utilisation des plantes médicinales est connue dans beaucoup de pays, dont l'Algérie, pour traiter de nombreuses maladies telles que Maladies cutanées, urinaires, gastro-intestinales, respiratoires, rénales, cardiovasculaires, dermatologiques, sexuelles et reproductives, anémie, rhumatisme, cancer et diabète. (**Benarba et al., 2015; Boudjelal , 2018**).

L'utilisation des plantes médicinales dans la médecine traditionnelle contre le stress a été communiquée dans de nombreuses études.

Dans la présente étude on s'est intéressé à trois plantes médicinales caractérisées connues par utilisation fréquente dans le traitement traditionnel du stress Algérie. Il s'agit de *Chamaemelum nobile L*, *Mentha piperita L* et *Lavandula stoechas L*

Les espèces de lavande sont d'une grande valeur marchande due à leur arôme plaisant. La matière végétale et son huile essentielle sont principalement utilisées en parfumerie, cosmétique et en industrie alimentaire. L'importance médicinale de la plante est bien documentée et les extraits préparés à partir de cette plante sont enregistrés dans beaucoup de pharmacopées (**Sultan et al. 2008**).

La menthe est consommée partout à travers le monde et est très appréciée pour sa fraîcheur inégalable. En cuisine, elle se glisse facilement dans les plats et desserts auxquels

## Introduction générale

---

elle apporte une agréable saveur dépaystant. Côté nutrition, la menthe est un véritable allié santé puisqu'elle favorise la digestion et nous fait profiter de sa teneur intéressante en vitamines et minéraux.

La camomille est très appréciée en France, pour son effet calmant, la fleur de camomille pousse partout en Europe de l'Ouest, au bord des étangs, en hauteur jusqu'à 1000 m d'altitude et de dans les sols secs et sablonneux. En Algérie, on la trouve dans le nord.

La camomille est très intéressante d'un point de vue nutritionnel, elle est source de fer, de phosphore mais aussi d'acides gras.

# **Revue bibliographique**

**Chapitre I :**

**Généralités sur les plantes médicinales**

## 1. Définition

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7000 ans avant notre ère par les hommes et sont à la base de la photothérapie. Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant des principes actifs différents (**Bruneton, 1999**).

### 4. Généralités sur la famille des Lamiacées

La famille des lamiacées englobe une variété de plantes aromatiques, distribuées principalement dans les pays à climat tempéré (**Derwich E., Chabir R., Taouil R. 2011**).

Elle comprend environ 220 genres et plus de 4000 espèces, dont le genre Menthe avec ses 25 espèces (**Arijit S. and Arpita B. 2013**).

La classification taxonomique de ces espèces est très difficile (**Denslow M.W. 2009**), en raison de la grande diversité dans leurs caractères morphologiques (**Lorenzo D., 2002**) et l'hybridation fréquente survenant dans les populations sauvages ou cultivées (**Multivariate numerical taxonomy of Mentha species, 2009**).

Les plantes appartenant à ce genre produisent plusieurs métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les phénols, les terpènes et les quinones (**Erum S., Naemullah M. and Masood S. 2012**).

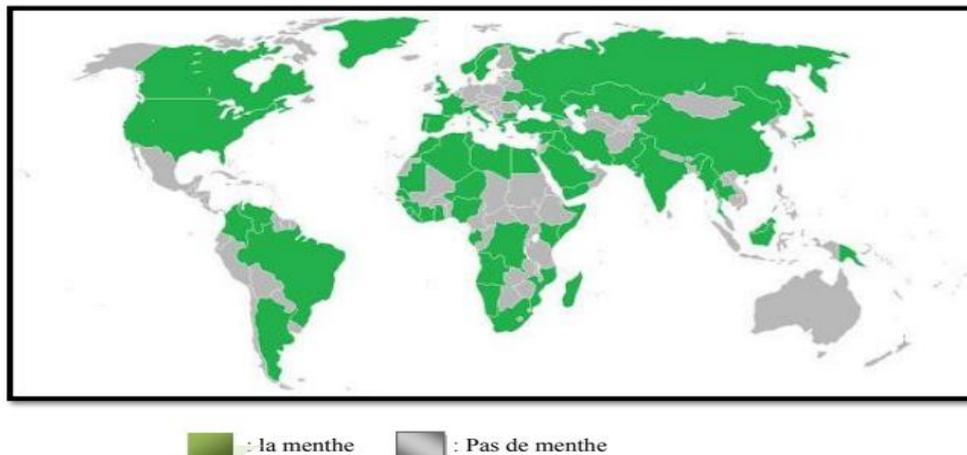
## 3. Le genre mentha

La menthe, du nom latin *Mentha*, fait partie des plantes vivaces, herbacées indigènes et très odorantes appartenant à la famille des lamiacées ou Labiacées, formée de près de 3500 espèces réparties sur 8 sous-familles (**Bruneton J., 1993**). Près de la moitié (47%) des Lamiacées sont regroupées dans la sous-famille des Neptoideae. Au sein de la sous-famille des Neptoideae, la Menthe est représentée par 18 espèces et environ 11 hybrides.

Les menthes conservent depuis l'Antiquité une infinie diversité d'emplois et occupent une large place dans les utilisations thérapeutiques. Elles fortifient tout le système des nerfs stimulant diffusible et aussi un sédatif diffusible (**II Edrissi A., 1982**). La Menthe se rencontre dans presque toutes les régions soit à l'état spontané ou cultivé (**II Edrissi A., 1982**).

#### 4. La répartition Menthe par le monde

La plupart des Menthes sont de la originaires de L'Europeet de l'Asie. Cependant, en suivant les flux de migration, les Menthes sont présentées sur la quasi-totalité des continents (Figure.1)



**Figure1** : La répartition de la Menthe dans le monde.

##### 4.1. Les espèces de menthe

Distingue plusieurs espèces de menthe, les principales espèces selon (<http://www.plantames.unimebl.edu.eau/Mentha.html> 2005).

- Menthe vert « *Mentha viridis* ».
- Menthe poivrée « *Mentha piperita* ».
- Menthe pouliot« *Mentha pulegium* ».
- Menthe à feuilles rondes« *Mentha rotundifolia* ».
- Menthe aquatique« *Mentha aquatica* ».
- Menthe des champs« *Mentha arvensis* ».
- Menthe java« *Mentha javanica* ».
- Menthe du canada« *Mentha canadensis* ».
- Menthe crépue« *Mentha spicata* ».
- Menthe bergamote« *Mentha citrata* ».

Dans notre étude nous intéressons à l'espèce *Mentha piperita* L.

## 4.2. *Mentha piperita* L

### 4.2.1. Présentation de *Mentha piperita* L

Ce sont des plantes aromatiques très utilisées en médecine traditionnelle, dans les préparations culinaires, les confiseries, en cosmétique et parfumerie (Bineau.M., 2002).

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

### 4.2.2. Classification botanique place *Mentha piperita* L :

Selon KOUAME et al.,(2016), La classification botanique est:

**Tableau1** Classification de la menthe poivrée.

<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Sous classe</b>	Gamopétales
<b>Famille</b>	Lamiacées (labiacées)
<b>Genre</b>	Mentha
<b>Espèce</b>	Menthapiperita

## 5. Généralité sur la famille des Astéracées

Le mot « aster » du grec signifie «l'étoile» en référence à la forme des fleurs (Gaussen et Leroy, 1982). La famille des Astéracées ou Composées est la famille la plus large des plantes à fleurs, famille de plantes dicotylédones, elle comprend près de 13 000 espèces réparties en 1500 genres formant approximativement 10% de la flore du monde (Pottier, 1981).

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Les fruits sont des akènes, souvent couronnés d'une aigrette de soies appelée « Pappus » qui favorise la dispersion des graines par le vent (Messai, 2011). Les racines des Astéracées sont d'habitude pivotantes et fibreuses.

## 5.1. La grande camomille *Chamaemelum nobile* L

### 5.1.1. Dénomination

On l'appelle "romaine" pour avoir été identifiée à Rome au XVe siècle, d'où elle nous est parvenue, via Londres, en tant que mauvaise herbe (**Mourice, 2013**). L'ancien nom latin de la camomille romaine était *Anthémis nobile* (**Nelly, 2013**). *Anthémis* vient du grec *anthos*, qui signifie « fleur » ; *nobilis*, « noble ». Elle est aussi connue sous les noms communs suivants : camomille odorante, *Anthémis noble* ou odorant, Camomèle, Camomille noble (**Pierre et Lys, 2007**).

### 5.1.2. Classification de *Chamaemelum nobile* L

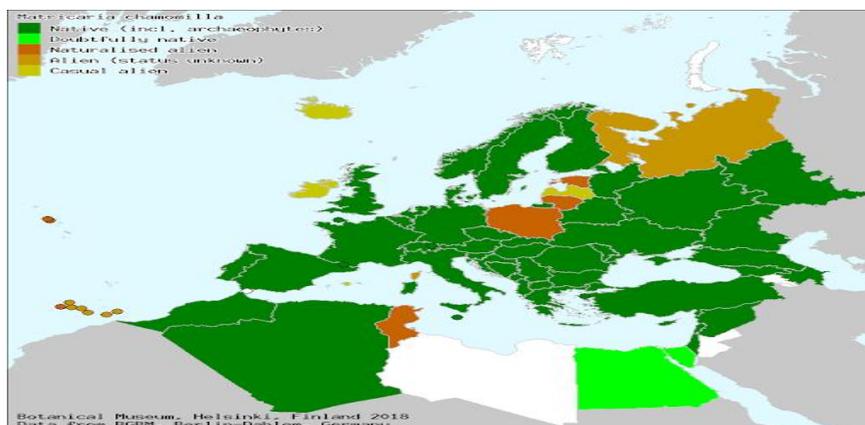
D'après **Quezel et Santa (1963)**, la systématique de la grande camomille est détaillée dans le Tableau 1 ci-après :

**Tableau2** Position taxonomique de *Chamaemelum nobile* L.

Taxonomie	Description
Règne	Plantea
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédoneae
Sous-classe	Astériidées
Ordre	Asteralae
Famille	Asteraceae
Genre	<i>Chamaemelum</i>
Espèce	<i>Chamaemelum nobile</i> L.

### 5.1.3. Répartition géographique

C'est l'espèce la plus fréquemment cultivée. Elle se développe sur un sol sec et riche en silice jusqu'à 1000 mètres d'altitude (**Nelly, 2013**). Originaires d'Europe du Sud-ouest (France, Espagne et Portugal), elle est présente en Afrique du Nord en Asie du Sud-ouest et en Moyen Orient (Egypte) (**Dezso, 2011**).



**Figure 2** : Répartition géographique de *Chamaemelum nobile* L.

#### 5.1.4. Composition chimique

La camomille romaine contient 0,4 à 1,5% d'huile essentielle contenant 85% d'esters, surtout de l'angélate d'isobutyle, accompagné des esters des acides méthylacrylique. Elle renferme aussi un alcool (l'anthémole), de la pinocarvone, du pinocarvéol. On y trouve aussi 0,6% de lactone sesquiterpéniques ; des flavonoïdes ; des acides caféique et ses esters glucosés ; des coumarines ; des acides gras, de mucilage et des minéraux (**Bellakhdar, 2006**).

**Tableau 3** Constituants chimiques de *Chamaemelum nobile* L.

Lactones Sesquiterpéniques	nobiline, 3-épinobiline et ses dérivés
Esters > 85 %	angélates d'isobutyle, iso-butyrates d'isoamyle, tiglates, méthylacrylates, crotonoates, butyrates de l'isobutanol, du 3- méthylbutan-1-ol, du 2-méthylbutan-1-ol.
Acides (traces)	acide angélique, acide isobutanoïque
Monoterpènes	$\alpha$ - and $\beta$ -pinène, $\beta$ -myrcène, limonène, $\gamma$ -terpinène, pcymane, camphène, (-)-pinocarvone, (-)-trans-pinocarveol
Autres constituants	spiroéther : trans- et cis-en-yn-dicycloéther, acides-phénols, coumarines flavonoïdes : apigénol-7-O-glucoside, apigénol-7-O-apioside, glucoside du lutéol

### 5. Le genre *Lavandula*

Vingt espèces de ce genre habitant la région méditerranéenne (**Chaytor, 1937**). Le genre *Lavandula* est l'un des plus importants genres de la famille des Lamiacées sous-arbrisseaux aromatique produisant une essence odorante très utilisée en cosmétique médecine et alimentation (fourrage) (**Bachiri et al ,2015**), caractérisé par les inflorescences en épis denses terminaux. Fleurs bractéoles. Calice tubuleux à 05 dents courtes inégales. Corolle exserte à tube dilaté à la gorge, à 02 lèvres, la supérieure à 02 lobes, l'inférieure à 03 étamines incluses. Feuilles entières ou tout au plus crénelées sur les marges. Epis florifères terminés par un toupet de grandes bractées patelliformes bleu-violacé. (**Quezel et Santa., 1962**).

#### 6.1. Nomenclature de la plante

Le nom lavande vient du verbe latin lavo, le nom avare est signifié se laver ou se nettoyer. La lavande est connue depuis l'Antiquité, comme en témoignent les travaux de Discoïdes intitulés « De Materia Medica », qui vante ses propriétés médicinales.

Les Romains utilisaient la lavande comme additif pour le bain et, au Moyen âge, il s'agissait de l'une des huiles essentielles les plus précieuses utilisées dans la fabrication de

parfums et de savons. Il a également été utilisé à la fois comme additif alimentaire et comme laxatif. (Prusinowska et al., 2014).

## 6.2. Description botanique de la lavande

La lavande est un petit arbrisseau dicotylédone de la famille des Labiées (ou Lamiacées), qui mesure de 30 à 60 cm de hauteur ; ses branches sont fines et ligneuses et on retrouve des feuilles étroites et pointues à sa base seulement. Les fleurs de la lavande, d'un bleu tendre ou violacé et en forme de petites corolles, sont regroupées en épis terminaux et dégagent un parfum très agréable. Cette plante ne pousse que dans les terrains rocailleux, mais bien drainés, calcaires et ensoleillés. On en trouve dans toute l'Europe méditerranéenne, parfois même jusqu'à 1 800 m d'altitude, plus spécialement dans les Préalpes de Provence. Excellente plante mellifère, la lavande est très prisée par les abeilles.

## 6.3. Composition chimique du genre *Lavandula*

La fleur de lavande est généralement composée d'au moins 0,8% à 3%huile volatile. L'Allemagne et la France ont des spécifications supplémentaires pour déterminer l'identité *L. angustifolia* Miller est composé de plus de 100 constituants, y compris des esters (monoterpényle): linalyleacétate (17,6% à 53%), acétate de lavandulyle (15,9%) et acétate de géranyl (5,0%); alcools (monoterpénols):linalol (26% à 49%), a-terpinéol (6,7%) et terpinène-4-ol (0,03% à 6,4%); sesquiterpène:  $\beta$ -caryophyllène (2,6% à 7,6%); monoterpène: cis- $\beta$ -ocimène(1,3% à 10,9%); oxyde (monoterpenoid):1,8-cinéole (0,5% à 2,5%). Le 2,4 *L. angustifolia* Miller comprend également environ 12% de tanins distinctifs de Lamiaceace, un atout dans les industries de la parfumerie et des cosmétiques. Le camphre, une cétone (monoterpénones), contient moins de 1%, ce qui est nettement inférieur aux autres espèces de *Lavandula*. Bien que l'acétate de linalyle en ait la plus grande proportion, le linalol est considéré comme le principal constituant actif.

# **Chapitre II:** **Le stress oxydatif**

## 1. Définition de stress

Le stress désigne le mécanisme psychologique mis en œuvre par l'organisme pour faire face à une situation particulièrement éprouvante ou considérée comme telle. Le stress est un ensemble de réactions de l'organisme lorsque celui-ci est soumis à des contraintes externes.

Le stress peut survenir en réponse à n'importe quel type d'agression, que ce soit une infection, une pathologie organique, un symptôme isolé, ou un problème d'ordre psychiatrique. Ce terme est plus souvent employé dans le sens d'anxiété, d'angoisse et ainsi se rattache à une part plutôt psychologique.

### 1. Les types de stress

Le stress. Nous le vivons tous de différentes façons, et nous avons tous différentes façons de le gérer. Pourtant, malgré le fait que le stress soit chose courante, 90 pour cent de toutes les consultations auprès des médecins de soins primaires concernent des malaises liés au stress. Il peut être étrangement difficile de le remarquer jusqu'à ce qu'il devienne un problème grave.

Pour certaines personnes, le stress se manifeste dans les habitudes alimentaires. Pour d'autres, il peut prendre la forme de douleurs.

Même si certaines personnes ont une grande conscience d'elles-mêmes et sont capables de percevoir facilement le stress, ce n'est pas le cas pour la plupart des gens. Lorsqu'il s'agit de détecter le stress, on en dénombre quatre types courants qui sont diagnostiqués par les professionnels de la santé :

- a) **Le stress physique** : Il s'agit souvent de la forme de stress la plus évidente. Il peut se présenter sous forme de maux de tête ou d'autres douleurs, ou vous pourriez remarquer une augmentation de votre rythme cardiaque. Le fait d'être malade plus souvent que d'habitude, ou de remarquer une tension dans tout le corps compte parmi les autres signes courants.
- b) **Stress mental** : Cette forme de stress est assez fréquente et plutôt facile à reconnaître. Le stress mental se présente souvent sous la forme de problèmes de mémoire, de difficultés de concentration ou d'anxiété.
- c) **Stress comportemental** : Ce type de stress peut être plus difficile à diagnostiquer soi-même. Le stress comportemental se manifeste par un changement dans vos habitudes courantes, comme la consommation alimentaire (manger plus ou moins qu'à

l'habitude), les habitudes de sommeil, le retrait social et l'évitement des responsabilités habituelles.

- d) **Stress émotionnel** : Il s'agit d'une autre forme difficile à diagnostiquer. Lorsque le corps éprouve un stress émotionnel, il a tendance à se préparer à combattre ou à fuir, ce qui peut se manifester de façon sournoise. Les signes de stress émotionnel peuvent s'accompagner d'une augmentation de l'agitation ou de la morosité.

## 2. Les causes de stress

Le stress est déclenché par des situations qui représentent un "danger" pour l'individu ou par des stressseurs. Ces situations de stress et/ou stressseurs peuvent s'apparenter par divers contextes en fonctions de l'âge de la personne.

### ✓ **Chez l'enfant et l'adolescent**

Ils peuvent se traduire par la confrontation à des situations violentes, abusives ou encore conflictuelles, comme dans le cas d'un divorce des parents.

### ✓ **Chez l'adulte**

Il s'agira davantage de situations stressantes dans la vie quotidienne et au travail, d'anxiété et de dépression. Des études ont notamment démontré qu'un état chronique de stress, chez l'adulte, était le plus souvent la conséquence d'un état anxieux sous-jacent.

### ✓ **Autres causes**

Peuvent être également associées à une situation de stress : le tabagisme, l'utilisation de substances illicites, des troubles du sommeil ou encore de l'alimentation.

Il a notamment été souligné que les personnes présentant un stress chronique et confrontées à des situations de stress sur le long terme, présentaient un taux de mortalité plus élevé.

## 3. Remèdes naturels contre le stress

- **Le millepertuis** est connu pour ses propriétés antidépressives et calmantes. Selon l'Agence Européenne du Médicament, l'usage traditionnel du millepertuis est reconnu pour son effet contre l'épuisement psychique passager et les tendances à la dépression légère et passagère. Il agit aussi sur l'anxiété, la nervosité, le stress, le sommeil et l'équilibre émotionnel.

- **Le houblon** : appartient à la famille des Cannabaceae, c'est une plante antistress. Les fleurs femelles du houblon, ses cônes, sont réputées pour ses vertus apaisantes et sédatives.

On les prend sous forme de tisane (amère). Les cônes peuvent être séchés, puis broyés, pris sous forme de gélule ou d'extrait liquide.

• **La menthe** : est reconnue pour ses vertus anxiolytiques. Elle est préconisée en tisane dans les troubles du sommeil liés au stress. Cette plante sédative favorise l'apparition du sommeil. il est plutôt recommandé de la consommer sous forme de tisane.

• **La camomille** : est une plante aux vertus relaxantes, anti-stresse et calmantes. Son impact favorable sur le sommeil est d'ailleurs reconnu par l'organisation mondiale de la santé (OMS). Afin de combattre efficacement le stress, laissez infuser la camomille pendant une dizaine de minutes.

• **La lavande** : est remarquable pour combattre le stress, l'angoisse, la lavande est également efficace contre les migraines, les étourdissements. Sa décoction est utilisée contre les entorses, foulures, contusions. La lavande se conserve en bouquets séchés en plein air.

# **Partie expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

Notre expérimental a été réalisé au sein des laboratoires pédagogiques de la Faculté des Technologie (Université de Boumerdes).

Dans cette partie seront présentées les méthodes qui se rapportent essentiellement à la préparation et la caractérisation de la poudre des plantes ainsi que la préparation et l'analyse des extraits hydroéthanolique à partir de la camomille (*Chamaemelum nobile* L) la menthe (*Mentha piperita* L) et la lavande (*Lavandula stoechas* L) à utilisation traditionnelle contre le stress.

### 1. Plantes médicinales utilisées

La menthe a été achetée dans le marché de Boumerdes, tandis que le prélèvement de la camomille et la lavande a été effectué par leur récolte dans les vergers de la région de Hammadi pour la première et dans les montagnes d'Al-Azzib pour la seconde (Figure 1).Le prélèvement des trois plantes a été effectué en Mars 2021.



**Figure1** : Les plantes utilisées dans notre étude avant (A) et après (B) le séchage.

### 2. Préparation des plantes médicinales

Afin de les réduire en poudres fines, les plantes ont subi l'ensemble des opérations suivantes :

- Triage manuel consistant à débarrasser les feuilles inappropriées.
- Nettoyage manuel procédé par un lavage à l'eau ordinaire dans le but d'éliminer les impuretés visibles et les particules de poussières susceptibles d'être collés aux feuilles.

- Séchage à l'air (à l'ombre) durant 15 à 20 jours afin de réduire le taux d'humidité initiale jusqu'à environ 2% du poids humide.
- Broyage mécanique effectué après séchage, à l'aide d'un broyeur à café pour réduire les plantes en poudres fines.
- Tamisage manuel faite dans un but d'enlever les grosses particules et ne maintenir que celles les plus fines. Le diamètre moyen de la poudre maintenue était d'environ 250  $\mu\text{m}$ .

### 3. Caractérisation de la poudre des plantes

Avant leur utilisation, les poudres obtenues sont été caractérisées sur les deux plans physique et physicochimique.

#### 3.1. Caractérisation physique

Différents paramètres physiques ont été déterminés : la masse volumique réelle la masse volumique apparente, la porosité entre les granules de la même poudre, l'indice d'écoulement (angle de repos) et l'indice de mouillabilité.

##### 3.1.1. Masse volumique et porosité

La masse volumique apparente  $\rho_a$  d'une poudre et la masse d'un volume de poudre considéré en l'état, en l'absence de tassement et sans considération du volume occupé par l'air. Elle s'exprime par conséquent en  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$ .

La masse volumique tassée  $\rho_t$  d'une poudre est la valeur de la masse volumique obtenue après tassement, exprimée en  $\text{Kg}\cdot\text{m}^{-3}$ .

##### ✓ Principe

Quelle que soit la masse volumique à mesurer, le principe de l'analyse consiste à mesurer la masse de poudre dans un volume donné sous différentes conditions, sans tassement pour  $\rho_a$ , avec tassement préalablement définis pour  $\rho_t$ .

##### ✓ Mode opératoire

- Avec une balance analytique, peser un cylindre gradué dont on connaît le volume ( $V_1$ ) et remplir à ras bord avec la poudre.
- Racler la poudre jusqu'à ce qu'elle soit à niveau avec le bord supérieure de cylindre puis peser.
- Relever à l'aide de la balance en g de la poudre ( $m$ ) avant tassement, indiquant la masse spécifique apparente.

- A l'aide d'un objet approprié, effectuer un tassement sur la même masse ( $m$ ).
- Relever le volume ( $V_2$ ) correspondant à l'après tassement.

Les masses volumiques sont exprimées en  $\text{kg.m}^{-3}$ .

**Masse volumique apparente ( $\rho_a$ ):**

$$\rho_a = \frac{m}{v_1} \times 1000$$

**Masse volumique tassée ( $\rho_t$ ):**

$$\rho_t = \frac{m}{v_2} \times 1000$$

Où :  $\rho_t$  est la masse volumique tassée ( $\text{kg.m}^{-3}$ ).

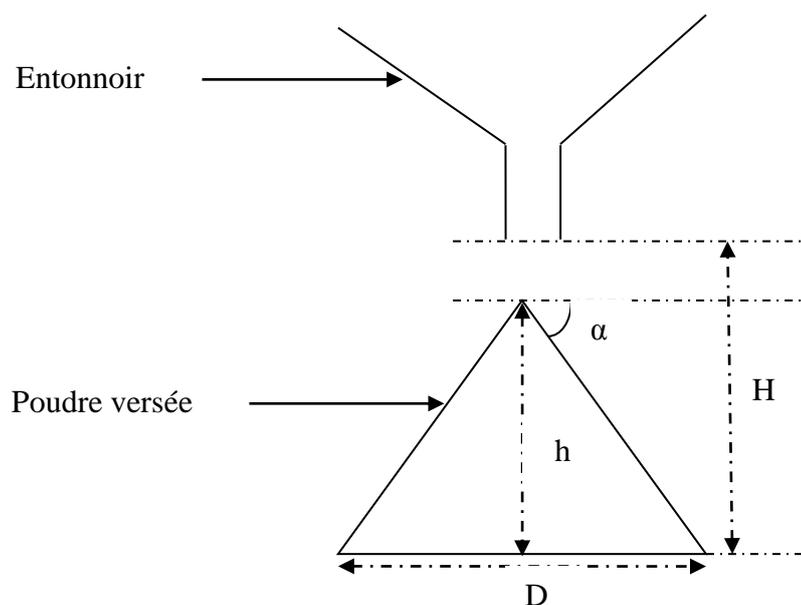
**Porosité**

La porosité ( $p$ ) est déduire à partir de la relation suivante

$$p = \frac{\rho_t - \rho_a}{\rho_a} \times 100$$

### 3.1.2. Détermination de l'indice d'écoulement (angle de repos)

Le produit s'écoule par un entonnoir et tombe sur une Platform d'une hauteur ( $h$ ) déterminée où il s'accumule en un tas de forme conique. L'angle de repos  $\alpha$ , est l'angle compris entre l'horizontale et le sommet du tas de forme conique. L'angle de repos  $\alpha$  et L'angle compris entre l'horizontale et le sommet du tas (Figure2).



**Figure 2:** principe de la détermination de l'angle de repos.

H : hauteur de l'entonnoir par rapport au Platform ;

D : diamètre de l'icône.

$\alpha$  : Déterminer à partir de la formole suivante :

$$\text{tng}(\alpha) = 2h/D$$

### 3.1.3. Détermination l'indice de mouillabilité

L'indice de mouillabilité muabilité est exprimé par le temps, en seconde, nécessaire une quantité de poudre donnée pour pénétrer dans l'eau à travers sa surface libre au repos.

#### ✓ Principe

L'indice de mouillabilité est mesuré à partir des résultats obtenus lors de la réhydratation de la poudre sans agitation.

#### ✓ Mode opératoire

- Verser 10 ml d'eau distillée à 20°C dans le bécher et placer l'entonnoir de façon qu'il appuie sur le bord supérieur du bécher.
- Placer le pilon à l'intérieur de l'entonnoir de façon qu'il bloque son ouverture.
- Placer autour du pilon la quantité de poudre pesée 2g.
- Soulever le pilon et mettre en marche le chronomètre.
- Arrêter le chronomètre quand toute la poudre a été mouillée.

L'indice de mouillabilité (IM) est exprimé comme la durée (en s) nécessaire pour que toute la poudre soit complètement mouillée.

## 3.2. Caractérisation physicochimique

Un ensemble de paramètre physicochimique ont été déterminés. Il s'agit de la teneur en eau, le pH, l'acidité titrable, la teneur en cendres et le taux des composés phénoliques.

### 3.2.1. Détermination des teneurs en eau et matière sèches (AFNOR, 1982)

#### ✓ Principe

La teneur en eau est détermination par NFt 60-305, juin 1976 décrite par ANFOR 1982 et qui consiste en un étuvage d'un échantillon 5 grammes de matière à 105±0,5°C.

#### ✓ Mode opératoire

0,0001 de précision, 5 grammes de l'échantillon sont pesés dans chaque capsule avant d'être placés à l'étuvage durant 4 heures. Les capsules sont retirées de l'étuve puis placées

dans le dessiccateur pour être refroidies et pesées. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée du séchage à 30 min).

- La teneur en eau (g/100 g  $M_s$ ) de poudre est calculée selon la relation suivante :

$$H\% = [p/(p_1 - p_0) - 1] \times 100$$

Où :

H%: Teneur en eau (g/ 100 g  $M_s$ );

$P_0$ : Massa de la capsule vide (en g);

$P_1$ : Masse finale (matière sèche + capsule vide) après dessiccation (en g);

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

La matière sèche ( $M_s$ , %) est déduire selon la formole suivante :

$$M_s(\%) = 100 - H(\%)$$

### 3.2.2. Déterminer du pH (AFNOR 36-16.)

#### ✓ Principe

La mesure du pH est basée sur la différence du potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence.

#### ✓ Mode opératoire

Après avoir fait l'étalonnage du pH-mètre avec la solution d'hydrogénocarbonate de potassium (6,5 à 7), on a procédé à la détermination du pH de chaque échantillon, en plongeant l'électrode (propre) dans la solution de l'échantillon à analyse et en le maintenant jusqu'à la stabilisation du pH.

Pour chaque échantillon broyé, une masse de  $2g \pm 0,001g$  est placée dans un bécher contenant 20 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie. Le mélange est agité est jusqu'à obtenir un liquide homogène et le Ph est mesuré par immersion direct de l'électrode du pH-mètre dans celui-ci.

La lecture est faite directement sur le pH-mètre à une température de 20°C.

### 3.2.3. Détermination de l'acidité titrable (AFNOR.1982)

#### ✓ Principe

Cette méthode est basée sur le titrage de l'acidité d'une solution aqueuse avec solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

#### ✓ Mode opératoire

L'acidité titrable est déterminée la méthode NF V 05-101(1974) décrite par AFNOR 1982 et relative au produit d'origine végétale.

Pour chaque échantillon broyé, une masse de 1g est placée dans une fiole conique contenant 20 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie.

Le mélange est agité jusqu'à obtenir un liquide homogène. La fiole conique est adaptée à un réfrigérant à reflux afin de chauffer (à 70°C env.) le contenu au bain-marie pendant 1h avec agitation (de temps en temps). Après refroidissement, le contenu de la fiole conique est transvasé quantitativement dans une fiole jaugée de 25 ml et complète jusqu'au trait de jauge avec l'eau distillée récemment bouillie et refroidie. Ensuite, il est mélangé puis filtré. Dix ml de filtrat sont versée dans un Becher et titrées avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,1N en présence de 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine, jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes.

Exprimée en pourcentage (g /100 g du poids humide), l'acidité titrable (A), est déterminée selon la formule suivante :

$$A = (25 \times V_1 \times 100) / (10 \times M \times V_0)$$

Où :

M : masse en gramme d'échantillon prélevé;

V<sub>0</sub> : volume (10 ml) en millilitres de la prise d'essai;

V<sub>1</sub> : volume versé, en millilitre de la solution d'hydroxyde de sodium à 0,1N utilisé.

### 3.2.4. Détermination de la teneur en cendres (AFNOR NF 04-201 ,1980)

#### ✓ Principe

La méthode est basée sur la calcination de la poudre à 600° dans un four à moufle jusqu'à obtention de cendres blanchâtres de poids constant.

### ✓ Mode opératoire

La teneur en cendres est déterminée selon la méthode **AOAC (2000)**.

Une masse de 1g de l'échantillon est placée dans une capsule en porcelaine et introduite dans un four réglé à  $600^{\circ}\text{C} \pm 15^{\circ}\text{C}$  durant 4 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur gris-claire ou blanchâtre. Les capsules sont ensuite refroidies dans un dessiccateur puis pesées.

La teneur en cendres ( $C_n$ , g /100 g  $M_h$ ) est déterminée selon la formule suivante :

$$C_n = [p/(p_1 - p_0) - 1] \times 100$$

Où :

$C_n\%$  : Teneur en cendres (g/100 g  $M_h$ ) ;

$P_0$  : masse de la capsule vide (en g) ;

$P_1$  : masse finale (matière sèche + capsule vide) après dessiccation (en g);

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

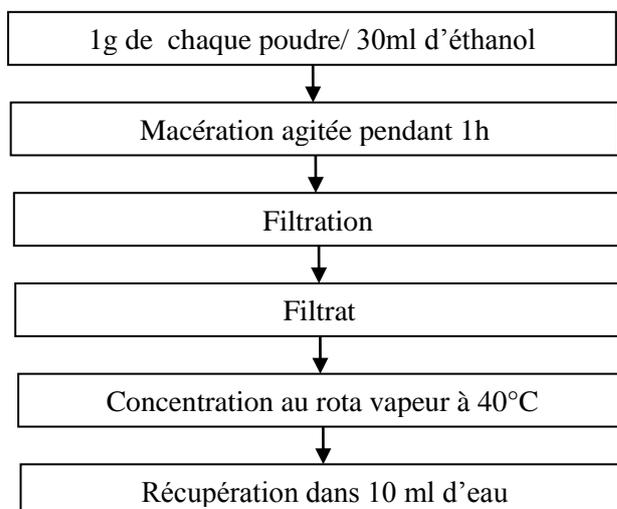
Le taux de matières organique ( $M_o$ , g /100 g  $M_h$ ) est déduit à partir de la relation suivante :

$$M_o(\%) = 100 - C_n(\%)$$

## 4. Extraction et dosage des polyphénols

### 4.1. Extraction des polyphénols

La Figure 3 montre le protocole d'extraction des composés phénoliques.



**Figure 3** : Etapes d'extraction des polyphénols.

#### 4.1.1. Détermination de la teneur en polyphénols totaux

- **Principe**

En présence du phénol, le mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolibdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ) réduit oxydes bleus de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $MO_8O_{23}$ ), que l'on détermine par colorimétrie.

- **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite dans la littérature (Kamazawa et al., 2002).

- **Préparation de la gamme d'étalonnage**

- Peser 2,5mg d'acide gallique.
- Les dissoudre dans 25 ml de l'eau, soit une solution ( $S_1$ ) avec une concentration de 0,1 mg/ml.
- Diluer la solution mère comme suit :
- Prélever 1 ml de la solution mère puis ajouter 1ml d'eau distillée et l'en obtient la dilution  $S/2$  ;
- Prélever 1 ml de la solution  $S/2$  puis ajouté 1 ml d'eau distillée, c'est la dilution  $S/4$  ;
- Refaire la même procédure pour les autres dilutions.

Le Tableau 1 montre la gamme de dilution de l'acide gallique.

**Tableau 1** Préparation de la dilution de l'acide gallique.

Dilution	S	S/2	S/4	S/8	S/16	S/32	S/64
AG, mg/ml	0.1	0.05	0.025	0.013	0.013	0.003	0.002

- **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

- Prélever 1 ml de chaque dilution dans des tubes à essais.
- Ajouter 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1/10.
- Après 3 min, ajouter 1 ml de carbonate de sodium à 10%
- Incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le blanc est représenté par 1 ml d'eau distillée additionné de 1 ml de Folin-Ciocateu et 1ml de carbonate de sodium à 10%. La lecture des absorbances est faite à 760 nm, après agitation et repos une heure. La concentration en composés phénoliques totaux est déterminée

en se à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g (mg EAG/100g) de poudre des matières premières.

#### **4.2.Extraction des flavonoïdes**

L'extraction des flavonoïdes est faite selon le protocole décrit précédemment en paragraphe (4.2) en utilisant l'éthanol comme solvant.

##### **4.2.1. Détermination de la teneur de flavonoïde**

La quantification de contenu flavonoïdique a été estimée par la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) donnée dans la littérature (**Ardestaniet Yazdanparast, 2007**).

- **Principe**

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux (féret aluminium).

- **Mode opératoire**

Un volume de 1 ml d'extrait éthanolique est mélangé à 1 ml de trichlorure d'aluminium (2%). Après homogénéisation, le tout est incubé à la température ambiante durant 1 h. La lecture de l'absorbance est faite à 430 nm contre un blanc qui ne contient pas de l'échantillon. La concentration des flavonoïdes est calculée en se référant à une courbe d'étalonnage ( $Abs = 0,0395 [quercetine] + 0,001$ ) obtenue de la même façon que celle citée en paragraphe (4.2.5), (Tableau 1) en utilisant la quercétine (0,1 mg/ml) comme standard.

#### **5. Préparation des différents extraits hydroéthanoliques**

La combinaison de deux constituants à caractère antioxydant ou plus peut avoir un effet synergique ou antagoniste sur les propriétés antioxydants du mélange final (**Wright et al., 2001**). Cela peut être estimé expérimentalement par l'évaluation de la capacité réductrice du fer ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en fer ferreux ( $Fe^{2+}$ ) après combinaison (**Oyaizu, 1986**).

Dans la présente étude on a opté pour le plans d'expériences de mélange dit afin d'optimiser notre mélange tri-composé obtenu à partir des trois plantes choisies.

L'optimisation consiste à déterminer la meilleure combinaison ayant le meilleur pouvoir réducteur. Le plan « Simplexe-réseau » a été choisi pour cet effet et analysé par le logiciel Minitab 16.

**Tableau 2** Matrice d'expériences.

Essai	Lavande	Menthe	Camomille
1	0	1,5	1,5
2	0	3	0
3	1,5	0	1,5
4	2	0,5	0,5
5	0	0	3
6	3	0	0
7	0,5	2	0,5
8	1	1	1
9	0,5	0,5	2
9	0,5	0,5	2
10	1,5	1,5	0

Pour l'extraction, 3 g du mélange sont introduits dans 30 ml de l'éthanol. Après une macération agitée durant une heure, le mélange est centrifugé à 3000tr/min durant 10 min et le surnageant a été maintenu pour subir une évaporation sous vide (rota-vapeur). Le solide résiduel a été récupéré dans 10 ml d'eau distillée et qui constituera ainsi l'extrait final.

Les proportions du mélange varient de 0 à 100% selon la table d'essai comme les montres le Tableau 2 .Au total 10 essais ont été réalisées suivant la matrice proposée par le logiciel. L'ordre des expériences a été entièrement randomisé ; car cela nous protéger contre les effets de variables perturbatrices.

### 5.1. Détermination du pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur a été déterminé selon la méthode d'Oyaizu (1986), elle est basée sur la réduction de l'ion ferrique ( $Fe^{3+}$ ) en ion ferreux ( $Fe^{2+}$ ). Cette réaction se manifeste par l'apparition d'une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au potentiel.

#### ➤ Mode opératoire

Pour l'évaluation du pouvoir réducteur, 1ml de l'extrait éthanoïque a été mélangé de 1ml de la solution tampon (0,2 M, pH 6,6) et 1ml de ferricyanure de potassium (1%). Après homogénéisation, le mélange est incubé à 50 C° pendant 20 min. Après l'ajout de 1ml de l'acide trichloracétique (10 %), on centrifuge à 3000tr/ min durant 15 min. 2,5 ml du surnageant sont dilués avec 2,5 ml d'eau distillée et dosés avec 0,5 ml de  $FeCl_3$  à 0,1 %. La

lecture de l'absorbance est ensuite faite à 700 nm contre un blanc dans lequel l'extrait est remplacé par 1ml d'eau.

Le pouvoir réducteur (PR) est exprimé en densité optique déterminée à 700 nm. Ainsi, une densité élevée vaut une meilleure capacité de réduction.

## 6. Modélisation de plan d'expériences

Le modèle choisi est le modèle: Spécial cubique. La modélisation de l'extraction selon le plan d'expériences a été proposée par le logiciel Minitab 16. L'adéquation aux résultats a été vérifiée par les coefficients de détermination ( $R^2$ ) donnés par le logiciel.

## 7. Préparation de l'extrait hydroalcoolique final

Après la détermination du mélange optimal, l'extrait hydroalcoolique final a été obtenu en utilisant le même protocole d'extraction suivi précédemment (paragraphe 5), avec toutefois l'utilisation d'une masse de 5 g du mélange et 150mL de l'éthanol. Le solide obtenu après évaporation au rota-vapeur a été récupéré dans 50mL.

### 7.1. Caractérisation de l'extrait hydroalcoolique final

L'extrait hydroalcoolique du mélange optimal a été déterminé sur le plan physicochimique en déterminant les paramètres suivants :

#### 7.1.1. °Brix

Le terme Brix exprime le pourcentage poids /poids de saccharose dans une solution pure. La valeur Brix est la valeur lue par réfractomètre qui donne le pourcentage de sucre dans le produit. Ce pourcentage est exprimé en pourcentage de masse ou degré de Brix.

##### ✓ Principe

L'indice de réfraction permet de connaître le degré de la pureté d'un liquide ou la dose de solide dissous dans une solution.

##### ✓ Mode opératoire

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée (mettre en zéro).
- Appliquer une goutte de l'échantillon préalablement homogénéisé sur la surface de prisme.
- Diriger le réfractomètre vers une source lumineuse.
- Lire directement la valeur de Brix sur l'appareil l'écriture entre les deux.

### 7.1.2. Conductivité

- **Principe**

La conductivité thermique  $\lambda$  intervient dans l'analyse des transferts énergétiques, exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique.

- **Mode opératoire**

Une solution de l'extrait est préparée et l'électrode de conductimètre est plongée dans la solution. La lecture se fait directement sur l'afficheur de l'appareil à  $T = 22 \text{ C}^\circ$ .

### 7.1.3. Teneur en phénoliques totaux

La concentration en composés phénoliques contenus dans notre extrait final a été déterminée selon le même protocole utilisé précédemment (paragraphe 4.2 et paragraphe 4.3).

### 7.2. Activité antioxydante

L'activité antioxydante a été déterminée suivant la méthode présentée en paragraphe

### 5.8. Analyses statistiques des résultats

Le logiciel Minitab 16 a été utilisé pour analyser, modéliser et optimiser et les résultats du plan d'expériences. Tandis qu'Excel (2010) a été utilisé pour analyser les résultats de caractérisation aussi bien des matières premières que de l'extrait final.

# **Résultats et discussion**

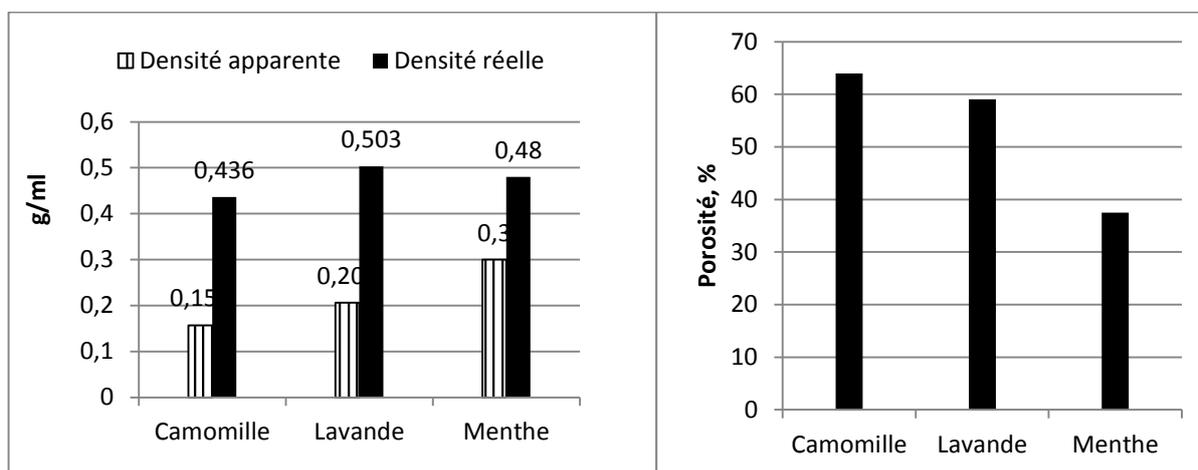
Pour rappel, le présent expérimental porte sur la préparation et la caractérisation d'un extrait hydroéthanolique tri-composé à caractère antistressant obtenu à partir de trois plantes médicinales qui sont la camomille (*Chamaemelum nobile L*), la menthe (*Mentha piperita L*), la lavande (*Lavandula stoechas L*), connues, en Algérie, par leur utilisation traditionnelle contre le stress.

Dans la présence partie seront présentés et discutées les résultats relatifs aux différentes analyses effectuées.

## 1. Caractérisation physique des différentes poudres

### 1.1. Densités et porosité

La Figure 1 illustre les résultats qui concernent la densité réelle, densité apparente et la porosité entre les pores dans la même masse de produit.



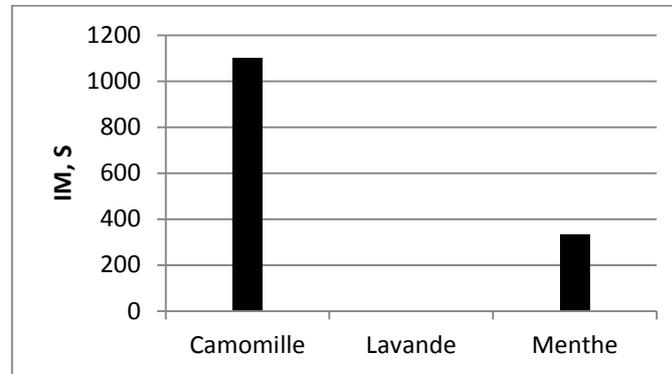
**Figure 1 :** Densité réelle, densité apparente et porosité des différentes poudres analysées.

Les poudres analysées dans cette étude se caractérisent par une faible densité aussi bien ou apparente. En effet, ces produits sont nettement légers que l'eau, rappelons-nous, qui a une densité de 1g/ml. Les écarts entre les densités réelles et celles apparentes sont significativement importants ce qui a conduit à une porosité considérable arrivant jusqu'à 64%.

On rappelle que la densité et la porosité sont des propriétés qui peuvent trouver leur importance dans différentes phases au sein de la chaîne de production, telle que le triage, la séparation, l'aération.

## 1.2. Indice de mouillabilité

La Figure 2 illustre la mouillabilité de nos poudres analysées.



**Figure 2 :** Mouillabilité des poudres analysées.

Exprimé en seconde (S), l'indice de mouillabilité est défini par le temps nécessaire pour qu'une poudre donnée soit complètement mouillée par le liquide. Selon les seuils pris dans le cas de la poudre du lait, la poudre est qualifiée :

- très mouillable', si  $IM < 30$  S ;
- mouillable, si  $IM < 60$  S ;
- mouillabilité possible, si  $IM < 120$  S ;
- non mouillable  $IM > 120$  S.

En se basant sur ces limites, nos poudres semblent non mouillables, car elles possèdent des valeurs supérieures à 120 S ; toutefois, la poudre de la menthe s'avère plus mouillable par rapport à celle de la camomille. La poudre de la lavande ayant un temps illimité de mouillabilité, elle est donc non mouillable. Le non mouillabilité des poudres dans cette étude peut être justifié par la nature de leur composition : il est connu que ce type de matières végétales contient une quantité importante en fibres lignocellulosiques caractérisées par leur insolubilité dans l'eau, ce qui rend leur mouillabilité soit difficile et peut prendre beaucoup de temps.

## 1.3. Indice d'écoulement

L'indice d'écoulement indique directement la fluidité potentielle d'un produit, plus l'angle d'un produit sec est faible, plus le produit est fluide et plus l'indice de fluidité est

élevé. Selon la Figure 3, les deux, camomille et menthe ont se caractérisent par un comportement d'écoulement comparable vu les valeurs proches de l'angle 30°.

En comparant ces valeurs à celles du lait, la poudre de la lavande possède une tendance fluide car leur angle caractéristique se situe dans la gamme (40 à 59°) caractéristique à la poudre du lait (Schuketal.2012). Tandis que les deux autres poudres semblent avoir une tendance non fluide.

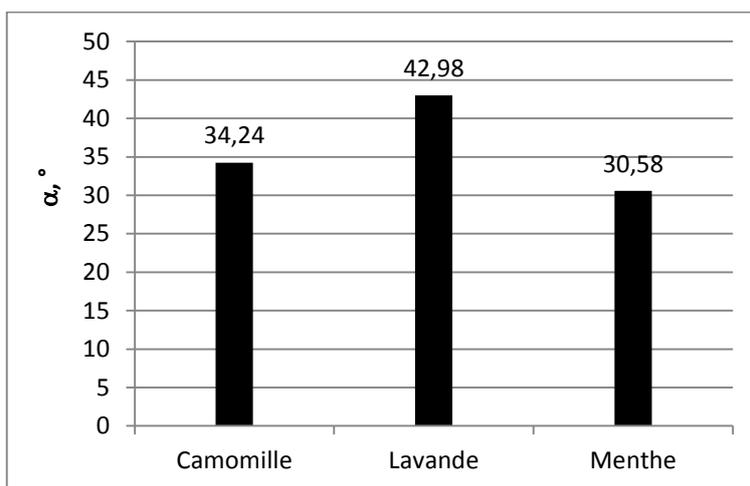


Figure 3 : Propriétés d'écoulement des poudres préparées.

## 2. Caractérisation physicochimique

### 2.1. Teneur en eau

La quantité en eau et en matières solides est indiquée par la Figure 4

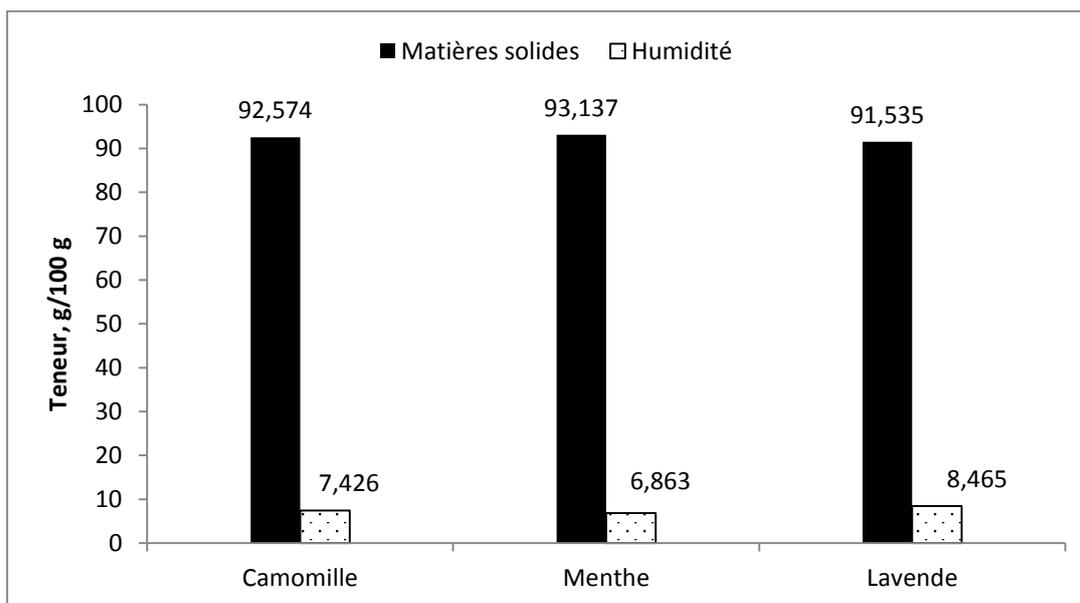


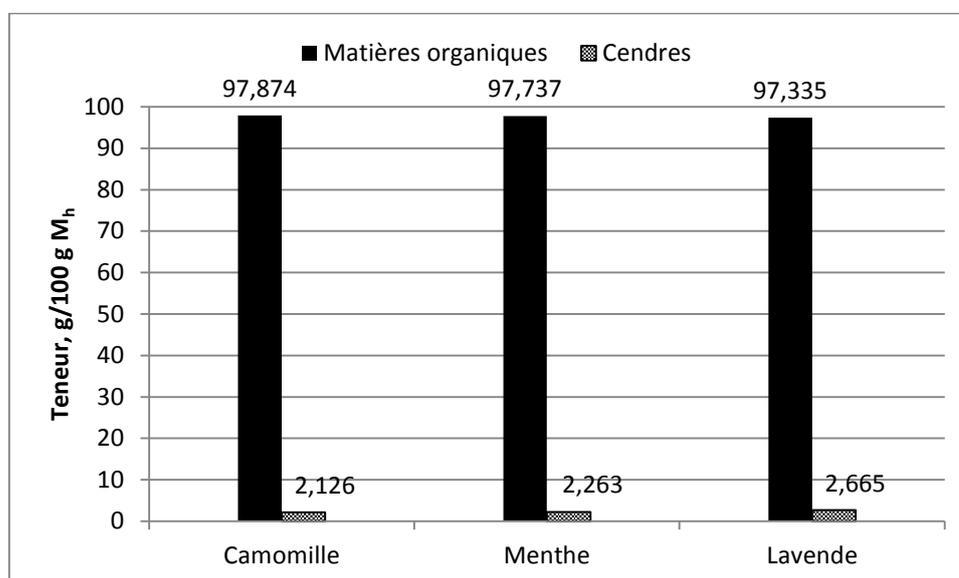
Figure 4 : Teneur en eau et en matières solides des trois poudres analysées.

Les poudres préparées ont des valeurs comparables aussi bien pour la teneur en eau comparables (environ 7%) que pour la teneur en matières solides (93%). Cela revient au fait que la quantité d'eau dans chaque plante a été réduite de la même manière sous l'effet de l'étuvage.

Il faut noter que, pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10% (**ParisetMoyse, 1965**). Cela signifie que nos poudres seront conservées sans problèmes ultérieurs.

## 2.2. Teneur en cendres

La quantité de matières organiques et minérales contenue dans les poudres utilisées est illustrée par la Figure 5.



**Figure 5 :** Quantités en matières organiques et minérales des poudres analysées.

Les cendres représentent la quantité en minéraux qui reste après incinération à haute température.

Selon la Figure 5, les plantes analysées ont des valeurs comparables et qui est de l'ordre de 2 g/100 g M<sub>h</sub> et ce qui a induit à une quantité de matières organiques voisinant les 97% du poids humide de chaque poudre. Par ces valeurs, nos plantes utilisées sont moins riches en cendres par rapport à certaines plantes médicinales telle que le laurier selon Malek et Mani (2019).

### 2.3. Acidités potentielle et titrable

Selon la Figure 6, les trois plantes ont un pH acides (<7), toutefois la camomille est potentiellement la plus acide (pH 5,221), suivie de la lavande (pH 5,57) puis de la menthe (pH 5,93).

Tandis que cette plante de lavande semble moins riche en acides organiques (12,5 g/100 g Mh) car elle a présenté un taux nettement inférieur à celui données par les deux autres plantes présentant des valeurs similaires (17,5 g/100 g Mh).

Notons que ces valeurs obtenues dans la présente étude sont semblables aux valeurs rapportées par Malek et Mani (2019) et qui concernent la lavande, plante médicinale utilisée traditionnellement également contre le stress oxydatif.

Nous rappelons que la quantité et la qualité en acides organiques des végétaux peuvent s'influencer par beaucoup de facteurs, on cite entre autres : la variété, les conditions de croissance, la maturité, l'origine géographique, la fertilisation, le type de sol, les conditions de stockage, le taux d'exposition au soleil et la période de récolte.

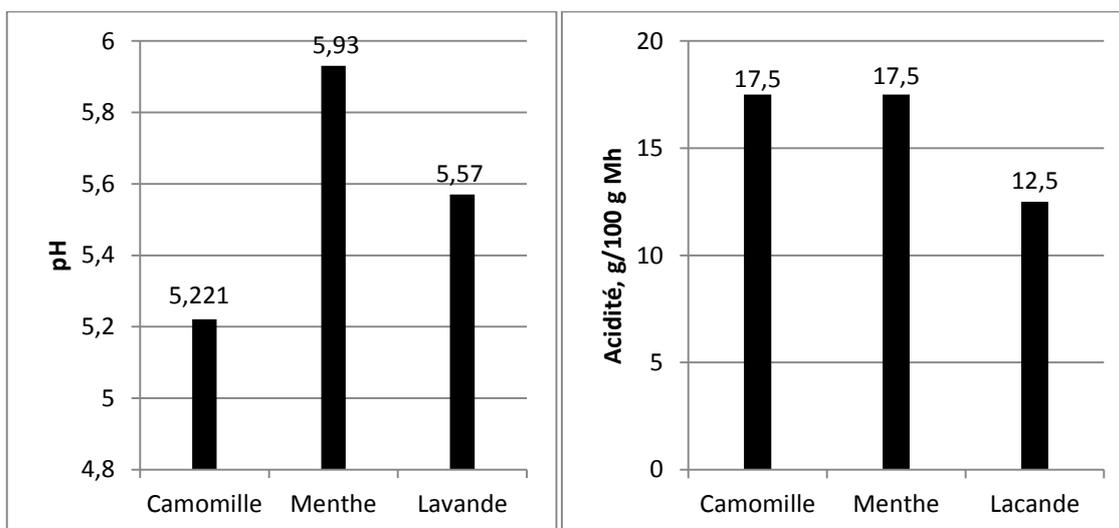


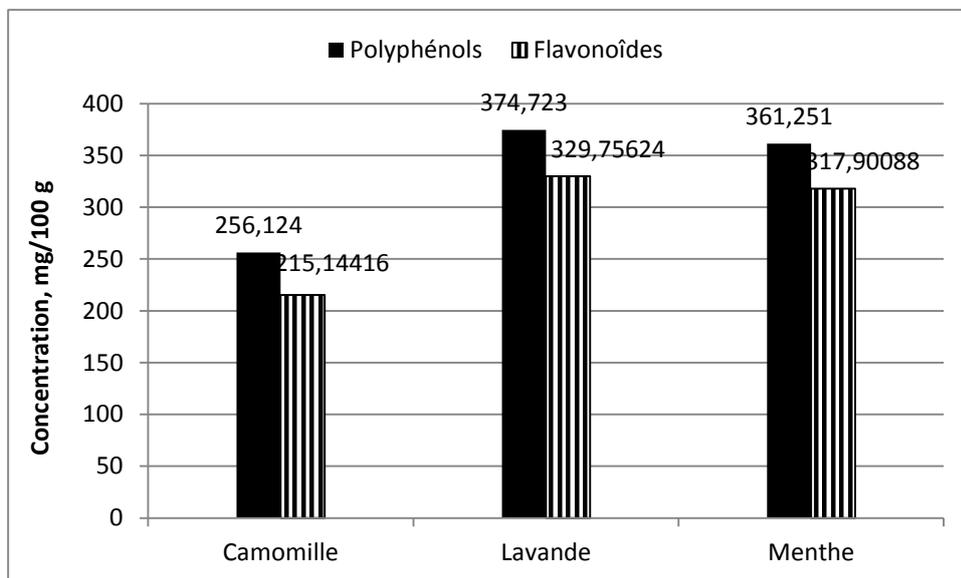
Figure 6 : Acidité des poudres analysées.

### 2.4. Propriétés antioxydantes

#### 2.4.1. Teneur en composés phénoliques totaux

Selon la Figure 8, les trois plantes analysées constituent une source intéressante de composés phénoliques particulièrement la lavande et la menthe qui semblent avoir des taux de polyphénols équivalant à 374,7 /100 g Mh et 361,2 g/100 g Mh respectivement, dont plus de 80% sont des flavonoïdes.

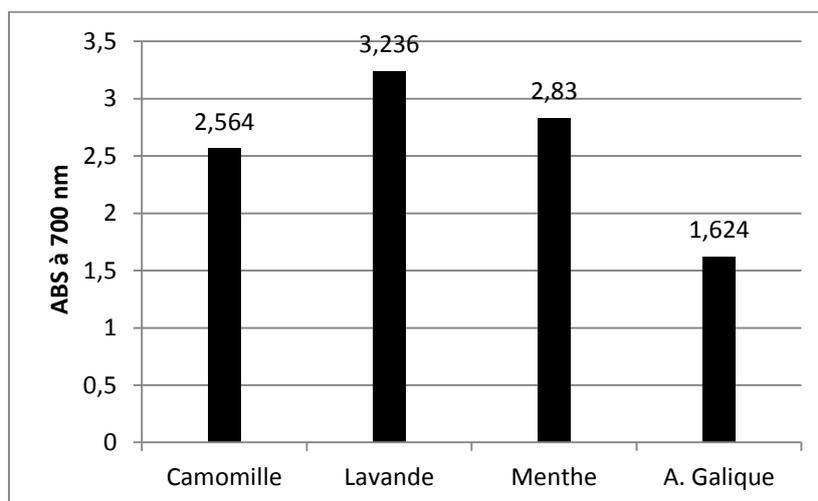
Notons que les composés phénoliques jouent un rôle primordial dans la lutte contre l'oxydation. Ces métabolites secondaires, produits se présentes dans tous les végétaux en quantité et qualité diversifiées, se caractérisent par leur sensibilité à l'oxydation ce qui permet de protéger les autres constituants de la cellule, et par conséquent réduire l'effet du stress oxydatif cellulaire.



**Figure 7 :** Concentration en composés phénoliques.

#### 2.4.2. Activité antioxydante

La Figure 8 illustre les résultats qui concernent l'activité antioxydante inhérente aux différentes plantes analysées.



**Figure 8:** Activité antioxydante des plantes analysées.

En dépassant significativement l'acide gallique (préparé dans les mêmes conditions), les plantes analysées ont un pouvoir réducteur intéressant, notamment la lavande et la menthe qui ont présenté des valeurs se rapprochant de 3. Cette propriété peut être due à leur richesse en composés phénoliques, notamment en flavonoïdes. Une corrélation positive entre la quantité en composés phénoliques et l'activité antioxydante a été prouvée dans plusieurs études (YuetDahlgren, 2000 ;Burnsetal.,2001) Toutefois, la qualité de ces composés qui a le plus d'effet sur les propriétés antioxydantes.

### 3. Modélisation et optimisation par le plan de mélange 'Simplexe-réseau'

#### 3.1. Matrice d'essais du mélange par le plan d'expérience

Exprimé en densité optique (Abs), le pouvoir réducteur a été déterminé pour chaque mélange suivant la matrice d'expériences et regroupé dans le Tableau 1.

**Tableau 1** Matrice d'essais avec les réponses obtenues.

Lavande	Menthe	Camomille	Abs
0	1,5	1,5	2,041
0	3	0	2,041
1,5	0	1,5	1,627
2	0,5	0,5	2,007
0	0	3	3,453
3	0	0	1,627
0,5	2	0,5	2,374
1	1	1	3,153
0,5	0,5	2	2,074
1,5	1,5	0	2,001

Il est clair de constater l'effet de combinaison des plantes sur la capacité réductrice de l'extrait final. En effet, le PR varie de 1,627 à 3,453 (suivant la combinaison).

#### 3.2. Modélisation et optimisation du mélange

##### 3.2.1. Analyses statistiques du plan

Dans le Tableau 2 les erreurs-types des estimations et les R-carrés sont donnés pour le modèle sélectionné.

**Tableau 2** ANOVA pour le pouvoir réducteur.

Source	Somme des carrés	DDL	Moyenne quadratique	Rapport F	Proba.
Spécial-cubique	1,2379	6	0,206316	26,00	0,0111
Erreur totale	0,0238099	3	0,00793663		
Total (corr.)	1,26171	9			

$R^2 = 98,1129$  pourcent(s)  
 $R^2$  (ajusté pour les ddl) = 94,3386 pourcent(s)  
 Erreur-type d'estimation = 0,0890877  
 Erreur absolue moyenne = 0,0380956

Ce Tableau affiche l'analyse de la variance pour le modèle spécial-cubique sélectionné. Comme la valeur de la probabilité pour ce modèle est inférieure à 0,05, il y a une relation statistiquement significative entre PR et les composants au niveau de confiance de 95,0%.

### 3.2.3. Modélisation du mélange

Le Tableau 3 présente les résultats du modèle « spécial-cubique » ajusté pour la capacité réductrice obtenue

**Tableau 3** Résultats du modèle spécial-cubique ajusté pour PR.

Paramètre	Estimation	Erreur	Statistique	Probabilité
		Type	T	
A (Lavande)	1,80738	0,0847393		
B (Menthe)	2,5097	0,0847393		
C (Camomille)	1,96416	0,0847393		
AB	-0,526366	0,396094	-1,32889	0,2759
AC	3,80205	0,396094	9,59887	0,0024
BC	-1,73851	0,396094	-4,38913	0,0219
ABC	2,95727	2,90477	1,01807	0,3836

$R^2 = 98,1129$  %  
 $R^2$  (ajusté pour les ddl) = 94,3386 %  
 Erreur-type d'estimation = 0,0890877  
 Erreur absolue moyenne = 0,0380956

La statistique du coefficient ( $R^2$ ) indique que le modèle ajusté explique 98,113% de la variabilité de PR. La statistique du R-carré ajusté, qui est préférable pour comparer des modèles ayant des nombres différents de variables explicatives, vaut 94,338%. L'erreur-type d'estimation indique que l'écart-type des résidus est de 0,089.

En se basant sur ces résultats, l'équation du modèle ajusté est la suivante :

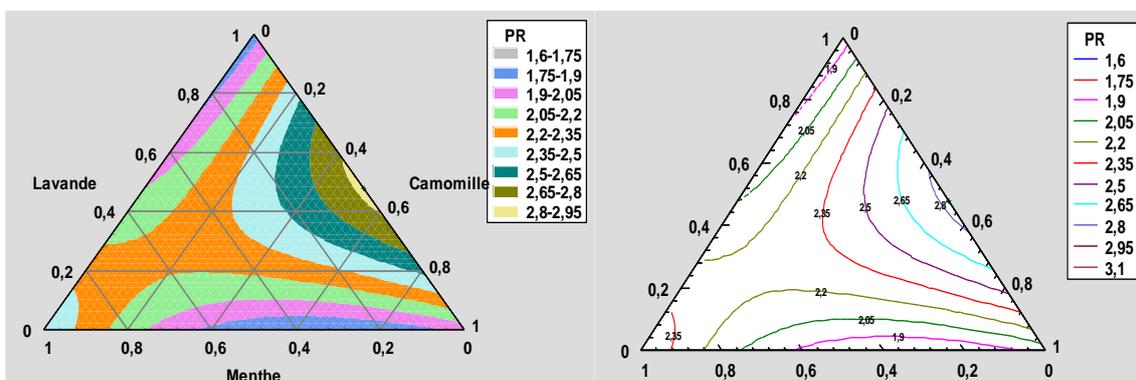
$$PR = 1,807 A + 2,509 B + 1,964 C - 0,526 A.B + 3,802 A.C - 1,738. B.C + 2,957. A.B.C$$

### 3.2.4. Optimisation de la réponse (PR)

Rappelons que l'optimisation a pour but de maximiser le pouvoir réducteur du mélange. Le logiciel propose les proportions optimales qui permettent d'avoir les niveaux de facteurs qui maximisent le PR, comme le montre le Tableau 10, la valeur optimale du PR est 2,8379 (Figure 9).

**Tableau 4** valeurs optimales du mélange selon le modèle « spécial-cubique ».

Facteur	Bas	Haut	Optimum
Lavande	0,0	1,0	0,479392
Menthe	0,0	1,0	1,90252E-8
Camomille	0,0	1,0	0,520608



**Figure 9** : Contours de la surface de réponse estimée.

## 4. Caractérisation de l'extrait hydroéthanolique final

Le Tableau 5 regroupe quelques résultats concernant la caractérisation physicochimique de l'extrait final optimisé.

**Tableau 5** Quelques propriétés physicochimiques de l'extrait hydroéthanolique optimisé par le plan de mélange 'Simplexe-réseau'.

Paramètres	Moyenne	Ecartype
pH	3,84	0,045
Conductivité, $\mu\text{s}$	1571	60,852
°Brix	2	0
Acidité, g/100 g	9	1
Densité, $\text{Kg/m}^3$	0,95128806	0,270

#### 4.1. Acidité de l'extrait

Comme le montre le Tableau 5, notre extrait est potentiellement acide du fait que son pH soit d'environ 4. Ce qui lui a permis d'être une source non négligeable d'acides organiques (9%).

Notons que cette portion d'acides pourrait renfermer différents acides appartenant à différentes catégories chimiques susceptibles d'être solubles dans le méthanol telles que les composés phénoliques.

#### 4.2. °Brix

Le °Brix est un paramètre qui permet de quantifier les matières solubles dans une solution aqueuse. Il est exprimé en pourcentage massique (poids/poids). De ce fait, la quantité en matières soluble dans l'extrait qu'on a préparé est de l'ordre de 2 g/100 g d'extrait. Cette portion des solides solubles renferme, rappelons-nous, toute matière capable d'être extraite par le solvant utilisé. La quantité et la qualité des matières solubles peuvent être un paramètre déterminant, car elles ont un rôle primordial sur les propriétés antioxydantes d'un extrait.

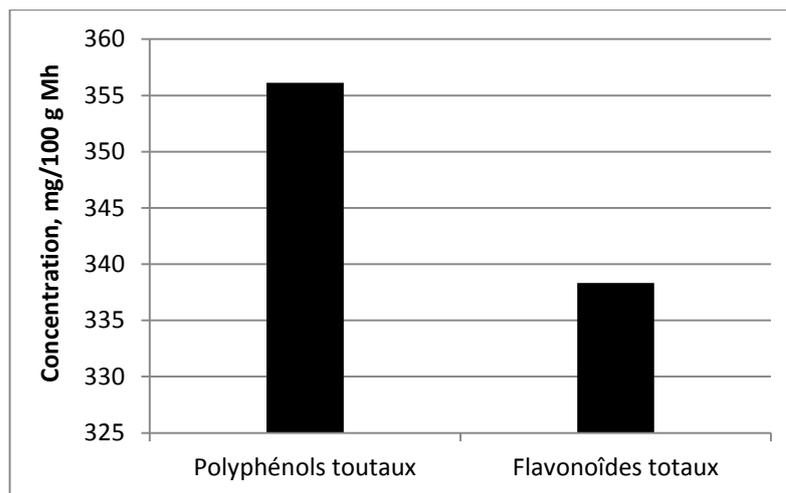
### 5. Propriétés antioxydantes

#### 5.1. Taux de polyphénols totaux et de flavonoïdes totaux

Selon la Figure 10 notre extraits 'avère être une source importante de composés phénoliques aussi bien pour les polyphénols 355 mg/100 g M<sub>h</sub> totaux que pour les flavonoïdes totaux 338 mg/100 g M<sub>h</sub>. Il faut noter que ces derniers représentent 95% des composés phénoliques extraits. Cette proportion élevée revient à la sélectivité exercée par le méthanol : selon (**Pineloet al., 2004**), il y a une grande affinité entre ce solvant est les composés phénoliques notamment les flavonoïdes contenus dans les végétaux.

La présence des composés phénoliques est très intéressante pour lutter contre le stress oxydant ; leu pouvoir antioxydant a été prouvé dans de nombreuses études (Paragraphe 5.1).

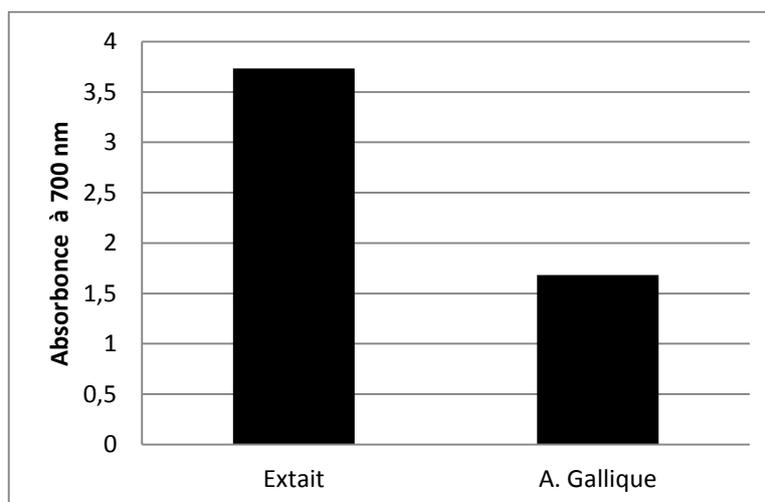
Toutefois, la quantité et la qualité des composés phénoliques sont influencées par différents facteurs tels que la méthode d'extraction, la période de récolte, les conditions du stockage et le solvant choisi (**Isfahlanetal., 2010 ;Takeokaetal.,2000**).



**Figure 10** : Composés phénoliques de l'extrait final.

### 3.2. Pouvoir réducteur

Exprimé en densité optique absorbée par l'extrait, l'activité de la réduction du fer ferrique en fer ferreux est donnée par la Figure 11.



**Figure 11** : Activité antioxydante de notre extrait.

D'après la Figure 11, notre extrait a un pouvoir de réduction du fer important du fait qu'il a une valeur largement élevée que celle de l'acide gallique, substance phénolique, rappelons-nous qu'elle a été préparée dans les mêmes conditions que notre extrait. Ce qui signifie que ce dernier a une capacité antioxydante intéressante qui est due, en grande partie de la présence des composés phénoliques, substances douées d'une intéressante propriété contre le stress.

# **Conclusion générale**

## Conclusion

---

Rappelons que cette étude porte sur la préparation et la caractérisation d'un extrait hydroéthanolique tri-composé à caractère antistressant obtenu à partir de trois plantes médicinales qui sont la camomille (*Chamaemelum nobile* L), la menthe (*Mentha piperita* L), la lavande (*Lavandula stoechas* L), connues, en Algérie, par leur utilisation traditionnelle contre le stress.

D'après la caractérisation physicochimique, une richesse remarquable en composés phénoliques a été constatée pour les trois plantes analysées, notamment pour la lavande qui contient environ 375 mg/100 g. La proportion en flavonoïdes pour les trois plantes dépasse les 80% du total des composés phénoliques. Ce qui induit à une activité antioxydante supérieure à celle de l'acide gallique.

Le plan d'expériences de mélange mis en jeu dans cette étude nous a permis de modéliser l'extrait éthanolique dû de la combinaison des trois plantes sélectionnées selon l'équation suivante :  $PR = 1,807 A + 2,509 B + 1,964 C - 0,526 A.B + 3,802 A.C - 1,738. B.C + 2,957. A.B.C$  et de maximiser l'activité antioxydante par l'optimisation du mélange selon les rapports suivants : 0,479 pour la lavande et 0,520 pour la camomille. La présence de la menthe pour avoir un effet synergique de l'activité antioxydante est négligeable.

L'extrait obtenu après l'optimisation semble caractérisé par :

- une richesse intéressante en polyphénols dans lesquels les flavonoïdes représentent plus de 90% des composés totaux ;
- une activité antioxydante certainement due en forte partie de cette richesse en composés phénoliques et dépasse significativement celle de l'acide gallique.

Nous jugeons utile que cette étude sera complétée, particulièrement par :

- La vérification, dans une étude *in vivo*, de l'effet antidiabétique susceptible exercé par l'extrait ;
- Des essais d'incorporation de l'extrait dans des aliments pour en faire des alicaments à potentiel antistressant.
- Etudier la possibilité de la mise sur le marché de tels produits qui à usage particulier contre le stress.

## **Références Bibliographiques**

**Abdellatif El Fadl & Nouredine Chtaina, (2010)** ‘ Etude De Base Sur La Culture De La Menthe Au Maroc.

**AFNOR 1982** : Recueil de norme françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR

**AFNOR 1986** : Lait et produits laitiers, méthode d’analyse recueil de normalisation française 2 éd, Masson Paris. P508.

**AFNOR 1999** : Lait et produits laitiers, v.1, Ed. Technique et documentation

**Arijit S. and Arpita B. (2013)**. Documentation of some ethno-medicinal plants of family Lamiaceae in bankura district, West Bengal, India. International Research Journal of Biological Sciences 2(6): 63-65.

**Benarba et al., 2015; Boudjelal et al., 2013; Gilca et al., 2018; Gürdal and Kültür, 2013; Kaval et al., 2014; Wagh and Jain, 2018).**

**Bruneton J.,(1993)**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales. Paris, Lavoisier, 623p.

**Bruneton, J., (1999)**. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. In: Technique et Documentation Lavoisier, Paris, pp. 418-419.

**Derwich E., Chabir R., Taouil R.and Senhaji O. (2011)**. In-vitro antioxidant activity and GC/MS studies on the leaves of *Mentha piperita* (Lamiaceae) from Morocco. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research 3(2): 130-136.

**Dong Woo H. and Kim J. (2013)**. Dietary flavonoid intake and risk of stomach and colorectal cancer. World Journal Gastroenterol 19 (7): 1011-1019.

**Ebrahimzadeh M. A., Nabavi S. M. and Nabavi S. F. (2010)**. Biological activities of *Mentha spicata* l. Pharmacology online 1: 841-848.

**Erum S., Naeemullah M. and Masood S. (2012)**. Phenotypic variation among *Mentha* spp. Pakistan J. Agric. Res 25(1): 55-61.

**Faller A. L. K., Fialho E. (2010)**. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional Plant foods. Journal of Food Composition and Analysis 23: 561–568

FAO : food and agriculture organisation .statistical Databasesme  
2012.(www.FAO.orgAccessed 19.07.13)

**Favier. A. (2003).** Le stress oxydant: intérêt conceptuel et experimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. L'actualité chimique 108-115.

Gausсен, (1982). Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology Volume(58), Pages 11-34.

**Gausсен, J.F. Leroy, P. Ozenda,.Gausсен, Henri; Leroy Jean-François (1982);** Ozenda Paul. Paris ; New York ; Barcelone etc. : Masson.

**Grassi D., Desideri G. and Ferri C. (2010).** Flavonoids: antioxidants against atherosclerosis. Nutrients 2: 889- 902

**Il Edrissi A., (1982).** Thèse De Troisième Cycle: Etude Des Huiles Essentielles De Quelques Espèces Salvia, Lavandula Et Mentha Du Maroc, Faculté Des Sciences De Rabat, Maroc, ,18-22.

**Khoddami A., Wilkes M. A. and Roberts T. H. (2013).** Techniques for analysis of plant phenolic compounds. Molecules 18: 2328-2375

**Kosalec I., Bakmaz M., Pepeljnjak S. and Vladimir-Knezevic S. (2004).** Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. Acta. Pharm 54: 65-72.

**Kothe H.W. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales. Ed terres. pp: 201.

**Maan Bahadur, Rokaya . (2010).** J Ethnopharmac. Department of Ecology, Faculty of Science, Charles University, Praha, Czech Republic. rokayamaan@gmail.com

Multivariate numerical taxonomy of Mentha species, hybrids, varieties and cultivars. . (2009). Scientia Pharmaceutica 77: 851-876.

**N. Benayad, (2008).** "Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées, (Mémoire, Université Kasdi Merbah , Ourgla.

**Nisrin Benayad. Novembre (2008).** Thèse Sur: Les Huiles Essentielles Extraite Par Plantes Médicinales Marocaine : Moyen Efficace De Lutte Contre Les Ravageurs Des Denrées Alimentaires Stockées, Université Mohammed V– Agdal De Rabat, 13-30.

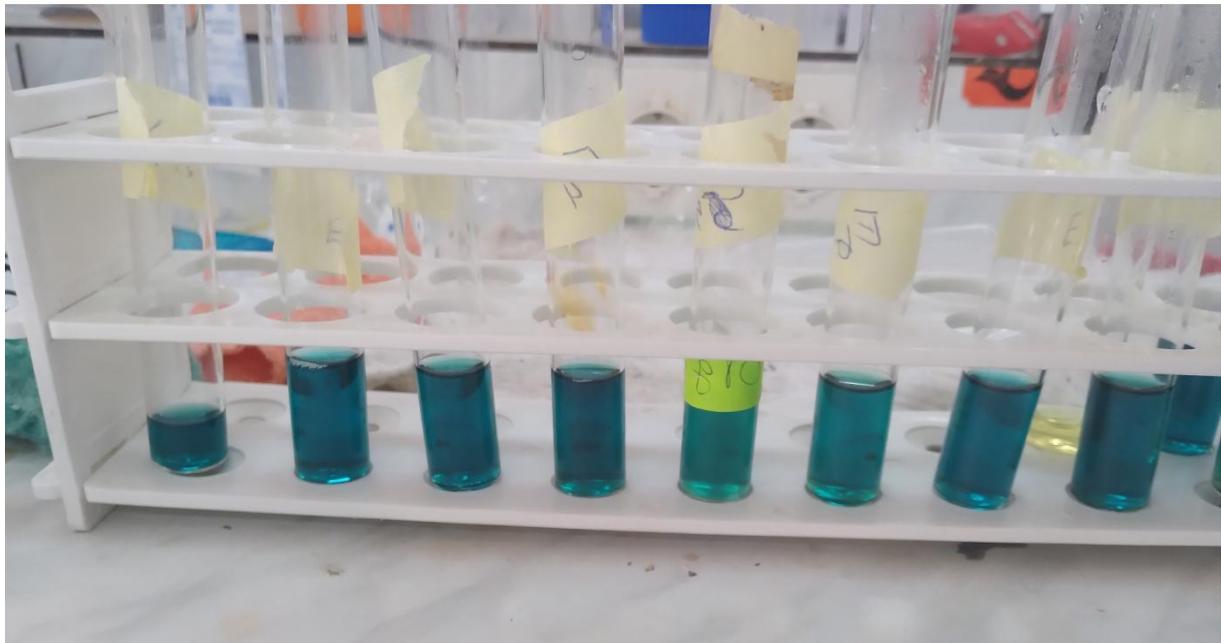
**Oyaizu, M. (1986).** Studies on products of browning reaction- Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese Journal of Nutrition. 44, 307–315.

**Šarić-Kundalić B., Fialová S., Dobeš C., Ölžant S., Tekel'ová D., Grančai D., Reznicek G., Saukel. J. (2009) .** Multivariate numerical taxonomy of *Mentha* species, hybrids, varieties and cultivars. Scientia Pharmaceutica 77: 851-876.

**Sultan, J. I. ; Inam-Ur-Rahim ; Haq Nawaz ; Muhammad Yaqoob ; Javed, I., (2008).** Mineral composition, palatability and digestibility of free rangeland grasses of Northern grasslands of Pakistan. Pak. J. Botany, 40 (5): 2059-2070.

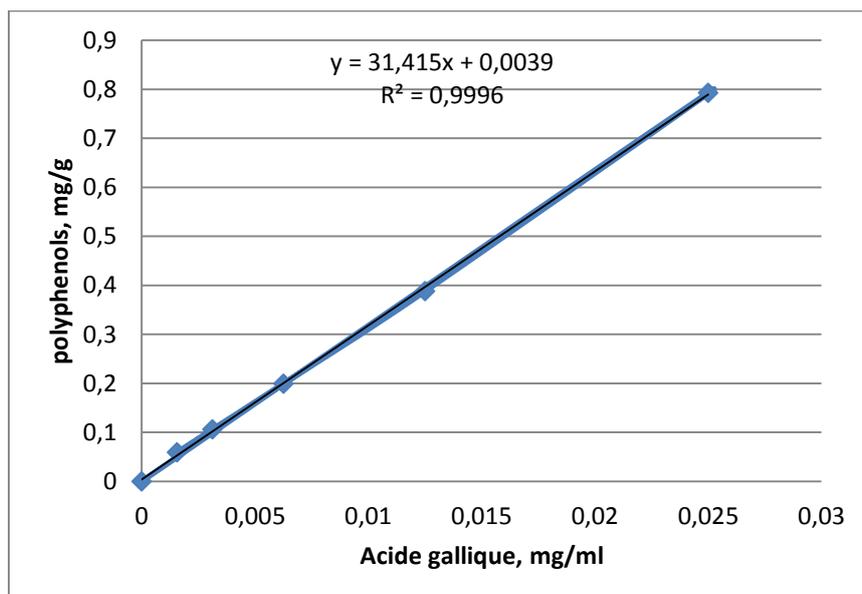
**Tucker, AO Et RFC Naczi (.2007).** *Mentha* : Un Aperçu De La Classification Et Les Relations. En 16-17: Laurent, BM, Ed, Monnaie. Du Genre *Mentha* . 16-

# **Annexes**

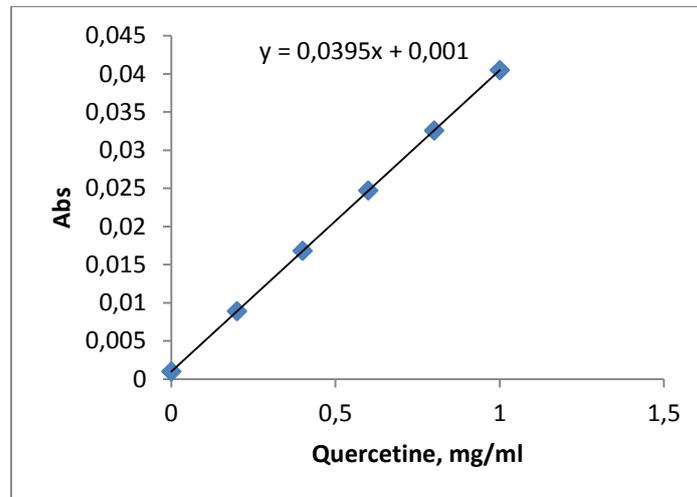


**Annexes 1 : Dosage des polyphénols de l'extrait final**

**Annexes 2 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**



### Annexes 3 : Courbe d'étalonnage de la quercetine



### Annexes 4 : Etape de l'extraction par le Rota-vap (40°).

