



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour -Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم علوم الفلاحة و البيطرة

Département des Sciences Agronomiques et Vétérinaires

## Projet de fin d'étude

En vue de l'obtention du Diplôme de Master II

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité: Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Thème:

**Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne  
de l'huile essentielle et des extraits de *Mentha spicata***

Présenté par : Taibi Kamal

Bengharbi Merouane

Devant le jury :

Président : M<sup>r</sup> BELMAHDI M..... MCB .....Université de Ziane Achour –Djelfa

Promoteur : M<sup>r</sup> KHIARI M..... MCB .....Université de Ziane Achour –Djelfa

Examineurs : M<sup>me</sup> RACHEDI F.Z ..... MAA .....Université de Ziane Achour –Djelfa

M<sup>elle</sup> BENMOUAFFEKI F... MAB .....Université de Ziane Achour –Djelfa

Année Universitaire : 2018/2019

# Dédicaces

*On dédie ce travail à:*

*Nos chers parents, pour leur endurance et leurs sacrifices sans limites*

*Nos frères et sœurs, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

*Tous nos proches*

*Nos amis*

*Nos camarades de promotion*

*A nos cher Docteur KHIARI M*

*Tous ceux qui nous aidé dans la réalisation de ce mémoire*

## ***REMERCIEMENTS***

**Nous remercions avant tout « Allah soubhanaho wa taala » :**

Le tout puissant, le miséricordieux, pour nous avoir donné la vie, la chance, la volonté, et le courage pour arriver à ce point et réaliser ce travail.

**À nos chers parents :**

Sans vous, sans doute on ne sera pas ici aujourd'hui.

Pour tout l'amour, le soutien, la patience et les efforts que vous avez faits pour nous aider à réaliser ce rêve.

On ne pourra pas trouver de mots assez forts pour exprimer notre reconnaissance et notre amour.

**À notre promotor de mémoire : Docteur KHIARI .M**

Vous avez accepté de diriger ce travail, malgré vos multiples occupations.

Aucun mot ne saurait traduire toute notre gratitude. Ces instructions de grande valeur que nous avons reçues, n'était en fait que votre volonté de nous voir réussir. Voici le résultat de vos efforts consentis.

Nous voudrions aussi vous remercier pour le temps et la patience que vous nous avez accordés tout au long de cette année.

De plus, les conseils que vous nous avez procurés tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs et enrichissants, nous facilitant ainsi la tâche et nous permettant la finalisation de cette mémoire.

Veillez accepter cher maître, l'expression de notre profond respect et gratitude.

**Nos vifs remerciements vont également à M. BELMAHDI M, M<sup>me</sup>RACHEDI F.Z et M<sup>lle</sup>BENMOUAFFEKI F qui ont bien voulu examiner ce mémoire.**

On tient à remercier les responsables des laboratoires du département de biologie de l'université Ziane Achour de Djelfa.

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous ceux et celles qui nous ont guidé à bien réaliser cette modeste recherche.

## Sommaire

Résumé

Dédicace

Remerciement

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction** 01

### Partie Bibliographique

#### Chapitre I : Les plantes médicinales et aromatiques

1. Terminologie.....	03
2. Historique.....	03
3. Définition des principes actifs.....	04
4. Différents groupes des principes actifs.....	05
4.1. Polyphénols.....	05
4.1.1. Acides phénoliques.....	05
4.1.2. Flavonoïdes.....	06
4.1.3. Tanins.....	06
4.1.4. Lignines.....	07
4.2. Alcaloïdes.....	07
4.3. Terpènes et stéroïdes.....	08
4.3.1. Saponosides.....	09
4.3.2. Huiles essentielles.....	09
5. Les plantes aromatiques médicinales (PAM) dans le monde.....	09
6. PAM en Algérie.....	10

#### Chapitre II : Généralités sur les Huiles essentielles

1. Définition.....	12
2. Origine des huiles essentielles.....	12

3. Composition chimique.....	13
4. Facteurs influençant la composition chimique (qualité).....	14
5. Propriétés physiques.....	14
6. Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	14
7. Mode d'action des huiles essentielles.....	15

### **Chapitre III: Monographie de la menthe verte (*MENTHA spicata L.*)**

1. Histoire de la menthe verte.....	17
2. Origine.....	18
3. Usages de la menthe.....	18
3.1. Usages médicinales de la plante.....	19
3.2. La menthe en automédication.....	19
3.3. L'utilisation des menthes dans l'industrie alimentaire.....	19
4. Étude de l'espèce : <i>Mentha spicata L.</i> .....	20
4.1. Définition.....	20
4.2. Description.....	20
4.3. Systématique.....	21
4.4. Composition biochimique.....	21
4.5. Utilisations.....	22
4.6. Activités biologiques.....	22
4.7. Activité antioxydante.....	22
4.8. Activité antibactérienne.....	22
4.9. Activité cytotoxique.....	22
4.10. Exigences écologiques de la menthe verte ( <i>Mentha spicata L.</i> ).....	22
a. Photopériode et température.....	22
b. Nature du sol.....	23
c. Altitude .....	23

### **Partie expérimentale**

#### **Chapitre VI : Matériel et méthodes**

1. Matériel végétal .....	24
1.1. Récolte de la plante.....	24
1.2. Séchage et broyage.....	24
2. Matériel du laboratoire.....	25
2.1 Verrerie.....	25

2.2. Produits chimiques.....	25
2.3. Appareils.....	26
2.4. Autres.....	26
2.5. Milieux de culture.....	26
2.6. Souches bactériennes.....	26
2.7. Les antibiotiques.....	27
3. Extraction de l'huile essentielle.....	27
a. Hydrodistillation .....	27
b. Extraction liquide-liquide.....	28
c. Déshydratation de la phase organique.....	28
d. Évaporation rotative.....	29
e. Calcul du rendement .....	29
4. Procédés d'extraction.....	29
• Extrait aqueux.....	29
• Extrait par différents solvants.....	30
4.1. Calcul du rendement.....	31
5. Test de l'activité antibactérienne des extraits de <i>Mentha spicata L</i> .....	31
5.1. Test d'antibiose.....	32
5.2. Les milieux de cultures utilisés.....	32
5.3. Mode opératoire.....	32
a. Préparation de milieu de culture.....	33
b. Inoculum .....	33
c. Ensemencement .....	33
d. La préparation des disques.....	34
e. Incubation .....	34
f. Lecture .....	34
6. Exploitation statistique des résultats.....	35

### **Chapitre V : Résultats et discussion**

1. Résultats de l'extraction de l'HE de <i>Mentha spicata L</i> .....	36
1.1. Propriétés organoleptique de l'HE.....	36
1.2. Évaluation du rendement de l'extraction.....	36
2. Rendement des extraits.....	37
3. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	37

3.1. Aromatogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	37
3.2. Aromatogramme d' <i>Enterobacter cloacae</i> .....	39
3.3. Aromatogramme d' <i>Escherichia coli</i> .....	41
<b>Conclusion</b> .....	46
<b>Références bibliographiques</b> .....	47
<b>Annex</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b>	La structure de base des principaux flavonoïdes	<b>06</b>
<b>Tableau 02</b>	Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde	<b>10</b>
<b>Tableau 03</b>	Taxonomie de <i>Mentha spicata L.</i>	<b>21</b>
<b>Tableau 04</b>	Composition biochimique de <i>Mentha spicata L.</i> Algérienne	<b>21</b>
<b>Tableau 05</b>	Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la région de récolte	<b>24</b>
<b>Tableau 06</b>	Diamètre de zones d'inhibition de <i>S. aureus.</i>	<b>38</b>
<b>Tableau 07</b>	Diamètre de zones d'inhibition d' <i>E. cloacae</i>	<b>40</b>
<b>Tableau 08</b>	Diamètre des zones d'inhibition d' <i>E. coli</i>	<b>42</b>
<b>Tableau 09</b>	Lecture de l'activité antibactérienne de <i>Mentha spicata L.</i> , huile essentielle extraits, les antibiotiques et DMSO.	<b>45</b>

## Liste des figures

<b>Figure 01</b>	Structure de base des acides benzoïque et cinnamique	<b>05</b>
<b>Figure 02</b>	Exemple d'alcaloïde, la morphine	<b>07</b>
<b>Figure 03</b>	Unité isoprénique	<b>08</b>
<b>Figure 04</b>	Structure de noyau stéroïde	<b>08</b>
<b>Figure 05</b>	Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles	<b>13</b>
<b>Figure 06</b>	la Menthe	<b>18</b>
<b>Figure 07</b>	Photographies des parties aériennes de <i>Mentha spicata L</i> (originale).	<b>20</b>
<b>Figure 08</b>	Situation géographique de la station d'étude	<b>24</b>
<b>Figure 09</b>	Feuilles et fleurs de <i>Mentha spicata L.</i> après séchage	<b>25</b>
<b>Figure 10</b>	Montage d'hydrodistillation	<b>27</b>
<b>Figure 11</b>	Extraction liquide-liquide	<b>28</b>
<b>Figure 12</b>	Le MgSO <sub>4</sub> anhydre	<b>28</b>
<b>Figure 13</b>	Évaporateur rotatif	<b>29</b>
<b>Figure 14</b>	Extraction sous reflux des feuilles de <i>Mentha spicata L.</i>	<b>30</b>
<b>Figure 15</b>	Extrait méthanolique obtenu	<b>30</b>
<b>Figure 16</b>	Extraction liquide-liquide	<b>31</b>
<b>Figure 17</b>	Extrait sec chloroformique	<b>31</b>
<b>Figure 18</b>	Schéma simplifié le principe de la méthode de l'aromatogramme	<b>32</b>
<b>Figure 19</b>	Technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en disque.	<b>34</b>
<b>Figure 20</b>	HE de <i>Mentha spicata L.</i>	<b>36</b>
<b>Figure 21</b>	Distribution des diamètres des zones d'inhibition de <i>S. aureus</i> en fonction d'HE, des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> , des antibiotiques et de DMSO	<b>38</b>
<b>Figure 22</b>	Action d'HE et des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> sur <i>S. aureus</i> .	<b>39</b>
<b>Figure 23</b>	Distribution des diamètres des zones d'inhibition d' <i>E. cloacae</i> en fonction d'HE, des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> , des antibiotiques et de DMSO	<b>40</b>
<b>Figure 24</b>	Action d'HE et des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> sur <i>E. cloacae</i>	<b>41</b>
<b>Figure 25</b>	Distribution des diamètres des zones d'inhibition d' <i>E. coli</i> en fonction d'HE, des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> , des antibiotiques et de DMSO	<b>42</b>
<b>Figure 26</b>	Action d'HE et des extraits de <i>Mentha spicata L.</i> sur <i>E. coli</i>	<b>43</b>
<b>Figure 27</b>	Action des antibiotiques et du DMSO sur les souches bactériennes (TOB: Tobramycine, NET : Nétilmicine, C: Chloramphénicol).	<b>44</b>

## Liste des abréviations

**%** : pourcentage

**µl** : microlitre

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**ANIREF** : Agence Nationale d'Intermédiation et de Régulation Foncière.

**ATB** : antibiotiques

**C°** : Degré Celsius

**C 30** : Chloramphénicol

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**D1, D2, D3** : les dilutions

**DMSO** : diméthylsulfoxyde

**DO** : densité optique

***E. cloacae*** : *Enterobacter cloacae*

***E. coli*** : *Escherichia coli*

**EX. aq** : Extrait aqueux

**EX. Chlor** : Extrait chloroformique

**FAO** : Food and Agriculture Organization (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture)

**GN** : gélose nutritive

**H** : heure

**HE** : huiles essentielles

**MgSO<sub>4</sub>** : Sulfate de magnésium

**MH** : Mueller Hinton

**NET 30** : Netilmicine

**PAM** : plantes aromatiques et médicinales

**R** : rendement

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**SD** : Écart-type

**TOB 10** : Tobramycine

**WHO** : World Health Organization (Organisation mondiale de la santé)

# *Introduction*

## Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisée diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études (Alessandra Moro Buronzo, 2008).

Actuellement, les plantes aromatiques possèdent un atout considérable grâce à la découverte progressive des applications de leurs huiles essentielles (HEs) dans les soins de santé ainsi que leurs utilisations dans d'autres domaines d'intérêt économique. Leurs nombreux usages font qu'elles connaissent une demande de plus en plus forte sur les marchés mondiaux (Alessandra Moro Buronzo, 2008). La popularité dont jouissent depuis longtemps les huiles essentielles et les plantes aromatiques en général reste liée à leurs propriétés médicinales en l'occurrence les propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques, antivirales, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides, tonifiantes, stimulantes, et calmantes (Franchomme et al., 1990).

Il existe un grand nombre d'huiles essentielles connues dans le monde et plusieurs milliers d'entre elles ont été caractérisées. Cependant, de ce nombre, une faible proportion seulement présente un intérêt commercial. Cela s'explique par la composition chimique des huiles, les différentes utilisations possibles et leur coût de production (Guiraud, 1998).

L'Algérie est riche en plantes aromatiques et médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes aromatiques sont, donc, la source des huiles essentielles (Marianne piochon, aout 2008).

C'est dans cette optique que se situe ce projet de mémoire dont l'objectif principal est d'étudier l'effet antibactérien de l'huile essentielle de la menthe verte (*Mentha spicata* L.) de la région de **Zenina** (El Idrissia-wilaya de Djelfa) sur 02 bactéries Gram négatifs et une de Gram positifs.

La méthode de travail se divise en 04 parties:

### **La première partie est une synthèse bibliographique comporte trois chapitres:**

- Le premier chapitre donne un aperçu sur les plantes médicinales.
- Le deuxième chapitre a été consacré aux huiles essentielles.
- Le troisième chapitre décrit la plante a étudiée : *Mentha spicata* L.

**La deuxième partie décrit les matériel et méthodes utilisées lors du travail expérimental :**

- Extraction d'HE.
- Extraction des extraits.
- Études de l'activité antibactérienne des HEs et des extraits de différents solvants.

**La dernière partie a été réservée aux résultats obtenus ainsi qu'à leur interprétation, suivie par une conclusion.**

*Partie*  
*Bibliographique*

*Chapitre I:  
Les plantes médicinales  
et aromatiques*

## 1. Terminologie

- ❖ **Phytothérapie** : est un mot d'origine grecque : « phyto » qui veut dire plante et « therapeuein » qui veut dire soigner. Autrement dit, au sens étymologique, c'est « la thérapeutique par les plantes » ; elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluant les principes actifs purs issus de celles-ci. Les plantes sont consommées sous plusieurs formes : en l'état (infusions) ou après transformation (teintures, extraits, médicaments à base de plantes, etc.) (Hmamouchi, 1999; Gazengel, 2013; Larousse médicale, 2001).
- ❖ **Plante médicinale** : définie par la pharmacopée par une plante dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Également appelée « drogue végétale » (Gazengel, 2013).
- ❖ **Aromathérapie** : branche de la phytothérapie, elle recourt aux extraits aromatiques des plantes (essences et huiles essentielles). Elle se différencie de la phytothérapie qui fait appel à l'ensemble des éléments contenus dans la plante (Hmamouchi, 1999 ; Lorrain 2013).

## 2. Historique

Les végétaux peuplaient la planète bien avant l'homme et ont d'abord servi à le nourrir via la cueillette puis la culture (Lorrain, 2013). Leur emploi a rapidement évolué en constatant leurs propriétés thérapeutiques pour traiter les blessures et les maladies. L'utilisation des arômes était également connue des civilisations de l'antiquité pour des usages religieux, cosmétiques mais aussi thérapeutiques (Lardry, 2007). Ce sont les égyptiens, 3150-1085 avant Jésus-Christ, de l'époque pharaonique, qui furent les premiers à avoir recours aux plantes aromatiques pour embaumer les morts, avec notamment un mélange d'huiles essentielles comme l'huile de cèdre, de basilic (Franchomme et al., 1997), et en utilisant des plantes aux propriétés antiseptiques connues comme le nard de l'Himalaya, la cannelle, le ciste et des produits de sécrétion aromatique comme l'encens ou la myrrhe (Couic-Marinier et Lobstein, 2013). En Grèce antique, Hyppocrate indiquait les bains aromatiques dans le traitement des maladies de la femme (Lardry, 2007). Et dans les grandes épidémies, on faisait brûler de la lavande, sarriette, romarin et de l'hysope (Franchomme et al., 1990). En Inde, à l'âge d'or de la médecine ayurvédique coïncidant avec l'apogée du bouddhisme (de 327 av. J-C. à 750 apr. J-C.), on conseillait couramment les plantes médicinales et aromatiques pour différentes indications : massages, bains, hygiène, santé et diététique (Lardry et Roulier, 1990). Au 1<sup>er</sup> siècle apr. J-C., apparut le traité intitulé

« De materia medica » écrit par Dioscoride, médecin et grand voyageur, dressant l'inventaire de 519 espèces de plantes et qui servira de référence dans la société Romaine et Arabe. Les arabes ont ainsi poursuivi les recherches sur les plantes médicinales en devenant les premiers à mettre au point la distillation des plantes, permettant d'en extraire l'huile essentielle, il y a de cela plus de mille ans (Nogaret-Ehrhart, 2008).

Cependant, avec les progrès de la science, l'avènement de la pharmacologie de synthèse (l'aspirine, la pénicilline, etc.) et l'émergence de la médecine basée sur la preuve, l'usage des médicaments chimiques a pris son essor, et ce depuis la seconde guerre mondiale, tandis que la phytothérapie ainsi que l'aromathérapie ont perdu de leur intérêt. Récemment, depuis le début des années 2000, il y a un retour en force vers cette discipline alternative. En effet, la prise de conscience par les patients et le personnel médical d'une image de plus en plus défavorable des médicaments de synthèse suite à l'apparition des effets indésirables, d'une efficacité parfois insuffisante ou nulle et l'émergence de résistances bactériennes ont renvoyé à nouveau vers l'usage de produits naturels à base de plantes médicinales qui semblent avoir de grands avantages. Ainsi, la phytothérapie médicale, aujourd'hui, creuse son chemin, se développe et se codifie. Des études scientifiques se multiplient prouvant de plus en plus l'efficacité thérapeutique des plantes, dont l'utilisation est plus réglementée selon des critères scientifiques et une démarche clinique rigoureuse pratiquée par des professionnels de la santé spécifiquement formés (Leila, 2015).

### 3. Définition des principes actifs

Le principe actif c'est une molécule contenu dans une drogue végétale ou dans une préparation à base de drogue végétale et utilisé pour la fabrication des médicaments (Pelt, 1980). Cette molécule présentant un intérêt thérapeutique curatif ou préventif pour l'homme ou l'animale, elle est issue de plantes fraîches ou des séchées, nous pouvons citer comme des parties utilisées: les racines, écorces, sommités fleuries, feuilles, fleurs, fruits, ou encore les graines (Benghanou, 2012).

Les plantes contiennent des métabolites secondaires peuvent être considérées comme des substances indirectement essentiels à la vie des plantes par contre aux métabolites primaires qu'ils sont les principales dans le développement et la croissance de la plante, les métabolites secondaires participent à l'adaptation de la plante avec l'environnement, ainsi à la tolérance contre les chocs (lumière UV, les insectes nocifs, variation de la température, etc.) (Sarnimanchado et Cheynier, 2006). Ces composés sont des composés phénoliques, des terpènes et stéroïdes et des composés azotés dont les alcaloïdes.

## 4. Différents groupes des principes actifs

### 4.1. Polyphénols

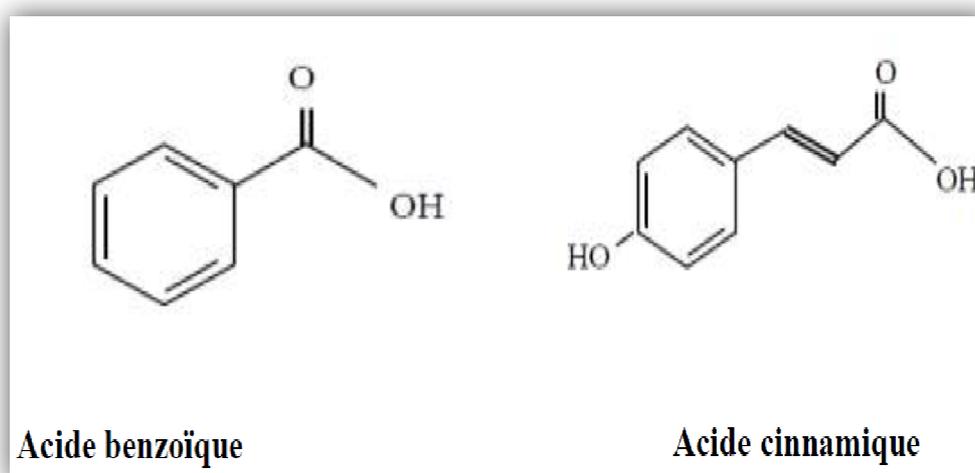
Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficielles, ils sont des composés photochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classes principales : les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines et les tanins (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

Comme ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve chez les plantes, elles ont un rôle principale à la vie de plante, à la défense contre les pathogènes; principalement les moisissures et les bactéries phytopathogènes et à la protection contre les rayonnements UV; sachant que tous les composés phénoliques absorbent les rayonnements solaires (Sarni-Manchado et Cheynier, 2006).

#### 4.1.1. Acides phénoliques

Les phénols ou les acides phénoliques sont des petites molécules constituées d'un noyau benzénique et au moins d'un groupe hydroxyle, elles peuvent être estérifiées, étherifiées et liées à des sucres sous forme d'hétérosides, ces phénols sont solubles dans les solvants polaires, leur biosynthèse dérive de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique (Wichtl et Anton, 2009).

Les phénols possèdent des activités anti-inflammatoires, antiseptiques et analgésiques (médicament d'aspirine dérivée de l'acide salicylique) (Iserin et al., 2001).



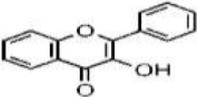
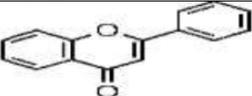
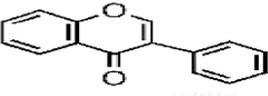
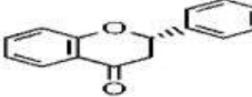
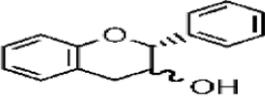
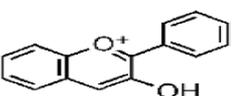
**Figure 01:** Structure de base des acides benzoïque et cinnamique (Bruneton, 2009).

### 4.1.2. Flavonoïdes

Terme en latin ; flavus = jaune. Ont une structure de C6-C3-C6 à poids moléculaire faible, ils peuvent être considérés parmi les agents responsables des couleurs de plante à côté des chlorophylles et caroténoïdes (Wichtl et Anton, 2009). Les flavonoïdes ont des sous-groupes caractérisés à contenant deux ou plusieurs cycles aromatiques existent sous forme libre dite aglycone ou sous forme d'hétérosides, chacun portant une ou plusieurs groupes hydroxyles phénoliques et reliées par un pont carboné (Heller et Forkmann, 1993).

Les flavonoïdes sont généralement des antibactériennes (Wichtl et Anton, 2009). Ils peuvent être exploités de plusieurs manières dans l'industrie cosmétique et alimentaire (jus de citron) et de l'industrie pharmaceutique (les fleurs de trèfle rouge traitent les rhumes et la grippe en réduisant les sécrétions nasales), comme certains flavonoïdes ont aussi des propriétés anti-inflammatoires et antivirales (Iserin et al., 2001).

**Tableau 01:** La structure de base des principaux flavonoïdes (Harborne et Williams, 2000).

Sous classe	Structure
Flavonoles	
Flavones	
Isoflavones	
Flavanones	
Flavan-3-ol	
Anthocyanes	

### 4.1.3. Tanins

Tanin est un terme provient d'une pratique ancienne qui utilisait des extraits de plantes pour tanner les peaux d'animaux (Hopkins, 2003). On distingue deux catégories :

Les tanins condensés, polymères d'unités flavonoïdes reliées par des liaisons fortes de carbone, non hydrolysable mais peuvent être oxydées par les acides forts libérant des anthocyanidines (Hopkins, 2003).

Les tanins hydrolysables, polymères à base de glucose dont un radical hydroxyle forme une liaison d'ester avec l'acide gallique (Hopkins, 2003).

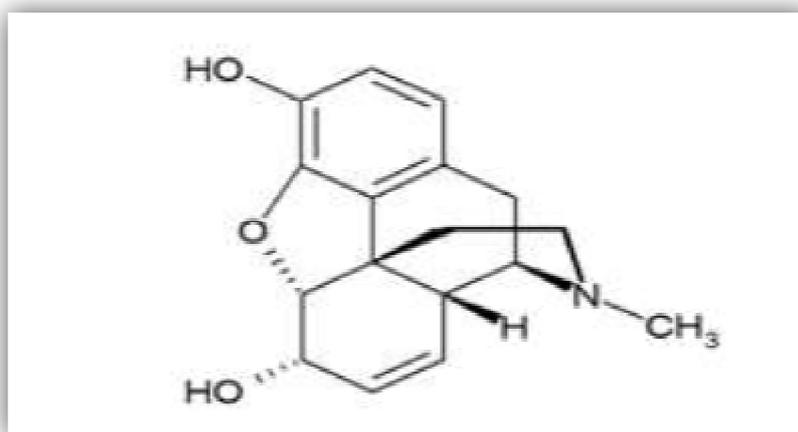
Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure, elles rendent les selles plus liquides, facilitant ainsi le transit intestinal (Iserin et al., 2001).

#### 4.1.4. Lignines

Composés qui s'accumulent au niveau des parois cellulaires (tissus sclérenchymes ou le noyau des fruits), au niveau de sève brute qu'ils permettent la rigidité des fibres, ils sont le résultat d'association de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols de caractère hydrophobe (Sarni-manchado et Cheynier, 2006).

#### 4.2. Alcaloïdes

Ce sont des substances organiques azotées d'origine végétale, de caractère alcalin et de structure complexe (noyau hétérocyclique), on les trouve dans plusieurs familles des plantes, la plupart des alcaloïdes sont solubles dans l'eau et l'alcool et ont un goût amer et certains sont fortement toxiques (Wichtl et Anton, 2009).

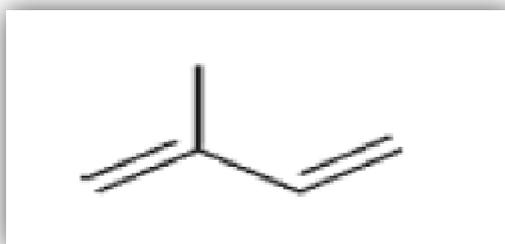


**Figure 02:** Exemple d'alcaloïde, la morphine (Osborn et Lanzotti, 2009).

Certains alcaloïdes sont utilisés comme moyen de défense contre les infections microbiennes (nicotine, caféine, morphine, lupinine) (HOPKINS, 2003). Des anticancéreuses (vincristine et la vinblastine) (Iserin et al., 2001).

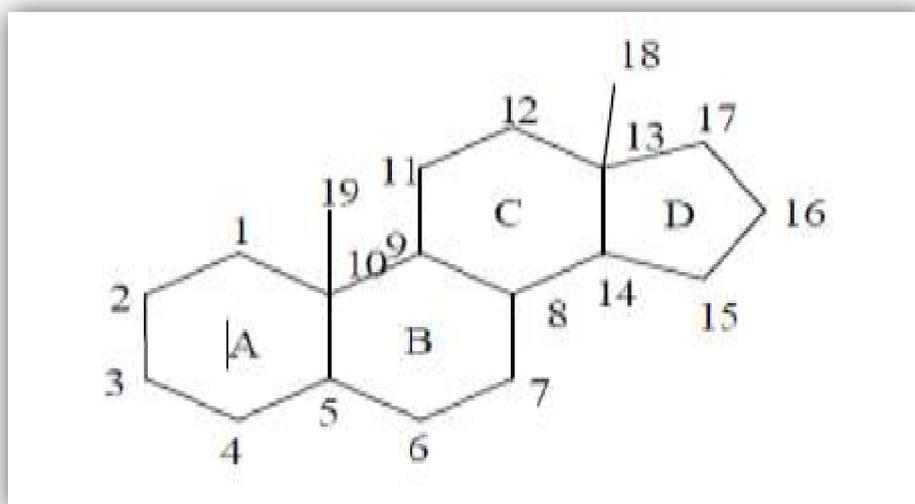
### 4.3. Terpènes et stéroïdes

Les terpénoïdes sont une vaste famille de composés naturels près de 15000 de molécules différentes et de caractère généralement lipophiles, leurs grandes diversités due au nombre de base qui constituent la chaîne principale de formule  $(C_5H_8)_n$  selon la variation de nombre  $n$ , dont les composés monoterpènes, diterpènes, triterpènes, sesquiterpènes, etc. (Wichtl et Anton, 2009). Ces molécules présentent en forme des huiles essentielles; parfums et goût des plants, pigments (carotène), hormones (acide abscissique), des stérols (cholestérol) (Hopkins, 2003).



**Figure 03:** Unité isoprénique (Osborn et Lanzotti, 2009).

Les stéroïdes sont des triterpènes tétracycliques, possèdent moins de 30 atomes de carbone, synthétisés à partir d'un triterpène acyclique (Hopkins, 2003).



**Figure 04:** Structure de noyau stéroïde (Ling et Jones, 1995).

Chez toutes les plantes on trouve ces composés liées avec un groupement alcool qu'ils nommés les stérols; prenant une forme plane, glycosylée, analogues du cholestérol qui ne diffèrent de celui-ci que par leur chaîne latérale comme: B-Sitostérol et Stigmastérol (Hopkins, 2003).

### 4.3.1. Saponosides

Le terme saponosides est dérivé de mot savon, sont des terpènes glycosylés comme ils peuvent aussi se trouve sous forme aglycones, ils ont un goût amer et acre (Hopkins, 2003). Ils existent sous deux formes, les stéroïdes et les terpénoïdes (Iserin et al., 2001).

### 4.3.2. Huiles essentielles

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil offrant à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs (Iserin et al., 2001). Ils Jouent un rôle de protection des plantes contre l'excès de la lumière et attirent les insectes pollinisateurs (Dunstan et al., 2013).

D'autre part, ils sont utilisées pour soigner des maladies inflammatoires telles que l'allergie et eczéma; et ils favorisent l'expulsion des gaz intestinales comme les fleurs fraîches ou séchées de plante "camomille" (ISERIN et al., 2001).

## 5. Les plantes aromatiques médicinales (PAM) dans le monde

Le marché mondial des plantes est en constante progression. Il atteint 700 millions de tonnes et près de 3 milliards de dollars courants en 2013 et 2014. La progression de la valeur des exportations signale un marché à la hausse durant les deux périodes considérées (1994-2003 et 2004-2013). Le taux de croissance annuel de 9 % est un taux élevé.

Les États-Unis, Hong Kong et la Chine sont les principaux importateurs. Ils dominent le marché en volume et en valeur. Le poids des autres pays importateurs est faible puisqu'ils occupent moins de 5% des importations totales mondiales que ce soit en volume ou en valeur. Même si leur part de marché est faible, il est important de signaler l'émergence de nouveaux importateurs sur le marché mondial. Ainsi, l'Inde quintuple la valeur des parts importées, suivie par la Malaisie.

La Chine avec Hong Kong occupe une position dominante dans les exportations suivies par les États-Unis. Elle totalise près de 40% de la part du volume des exportations et plus de 30% de la valeur des exportations. Certains pays connaissent une expansion rapide. L'Égypte en particulier, quadruple sa valeur des exportations entre les deux périodes de référence et passe ainsi de 2% à 6% des parts de marché mondial avec un taux croissant annuel de 8% en volume et de 13% en valeur entre 2013 et 2014.

L'Algérie quant à elle est absente de la scène internationale des échanges de plantes aromatiques et médicinales à un taux insignifiant sur le marché mondial de 0,0007% (Ilbert et al., 2016).

**Tableau 02 :** Importance de l'utilisation de la médecine traditionnelle dans le monde (WHO, 2002).

Importance de l'utilisation	Pays
80 % de la population locale pour les soins primaires	Australie
49 % d'adultes	Chine
30 % à 50 % dans les systèmes de santé. Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 95 % des hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle	Inde
Largement utilisée. 2860 hôpitaux ont des unités de médecine traditionnelle	Indonésie
40 % de la population totale	Japon
72 % des médecins pratiquent la médecine traditionnelle	Vietnam
Complètement intégrée dans les systèmes de santé. 30 % de la population se soignent par cette médecine	Pays occidentaux
75 % de la population a recours à la médecine traditionnelle au moins une fois.	France
77 % des cliniques pratiquent l'acupuncture	Allemagne
Etats-Unis : de 29 % à 42 % de la population utilisent la médecine traditionnelle.	Etats-Unis

## 6. PAM en Algérie

Selon Mokkadem (1999), l'Algérie comprenait plus de 600 espèces de plantes médicinales et aromatiques. On peut classer les plantes médicinales comme une ressource naturelle renouvelable, c'est à dire, que l'apparition ou la disparition des plantes, se fait périodiquement et continuellement dans des saisons définies par la nature (la biologie de la plante, l'écologie, etc.). Ces ressources subissent des dégradations irréversibles, comme on l'assiste aujourd'hui en Algérie et comme l'estime Mokkadem (1999), que ces dix dernières années, des dizaines de plantes médicinales et aromatiques ont été d'éperdues (Adli Ben Ziane et Yousfi, 2001).

Les plantes médicinales comme les autres plantes subissent différents aspects de dégradation avec un gradient d'intensité variable selon plusieurs causes (Paris, 1964). Dahia (1994), signale que la principale cause de dégradation rencontrée dans la zone de Boussâada (zone steppique) est la désertification, qui est du essentiellement aux:

- Exploitation abusive des sols inaptes aux cultures
- Déboisement des plantes (les arbres)
- Le surpâturage

Les produits issus des PAM font l'objet d'un commerce important au niveau mondial. Les importations suivies de réexportations, avec ou sans transformation, sont fréquentes. L'Algérie comme pour tous secteurs hors hydrocarbure participe massivement à ce marché à travers une activité d'importation des plus conséquentes, alors que l'activité d'exportation est peu présente.

Le bilan du Centre National de l'Informatique et Statistique (CNIS), affilié aux douanes algériennes, pour l'année 2014, fait état d'une hausse de 17% en volume et plus de 73% en valeur des importations en PAM par rapport à l'année 2013.

L'Algérie a importé pour 1 197 milliers d'euros à la fin de l'année 2014 contre 694 milliers d'euros à la même période de comparaison de l'année d'avant. En volume, cette facture correspond à des importations qui ont atteint 534 tonnes contre 456 tonnes à la même période de l'année précédente (Ilbert et al., 2016).

*Chapitre II:  
Généralités sur les huiles  
essentielles*

## 1. Définition

Le terme huiles essentielles (HEs) dérive de « quinta essentia », un nom donné par le médecin suisse Paracelsus aux extraits de plantes obtenues par distillation, il signifie la fragrance et la quintessence de la plante (Hart et al., 2008).

Une huile essentielle est définie comme le produit obtenu d'une plante ou certaines parties de celui-ci par hydrodistillation, distillation à la vapeur, distillation sèche ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage (par exemple pour les agrumes) (Rubiolo et al., 2010). Ce sont des liquides huileux aromatiques, volatils, caractérisés par une forte odeur, souvent colorés, et généralement avec une densité inférieure à celle de l'eau. Ils peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires. (Burt, 2004 ; Bakkali et al., 2008).

Les huiles essentielles ne représentent qu'une petite fraction de la composition de la plante néanmoins, elles confèrent les caractéristiques par lequel les plantes aromatiques sont utilisées dans l'alimentation, le domaine de la cosmétologie et les industries pharmaceutiques (Pourmortazavi et Hajimirsadeghi, 2007).

## 2. Origine des huiles essentielles

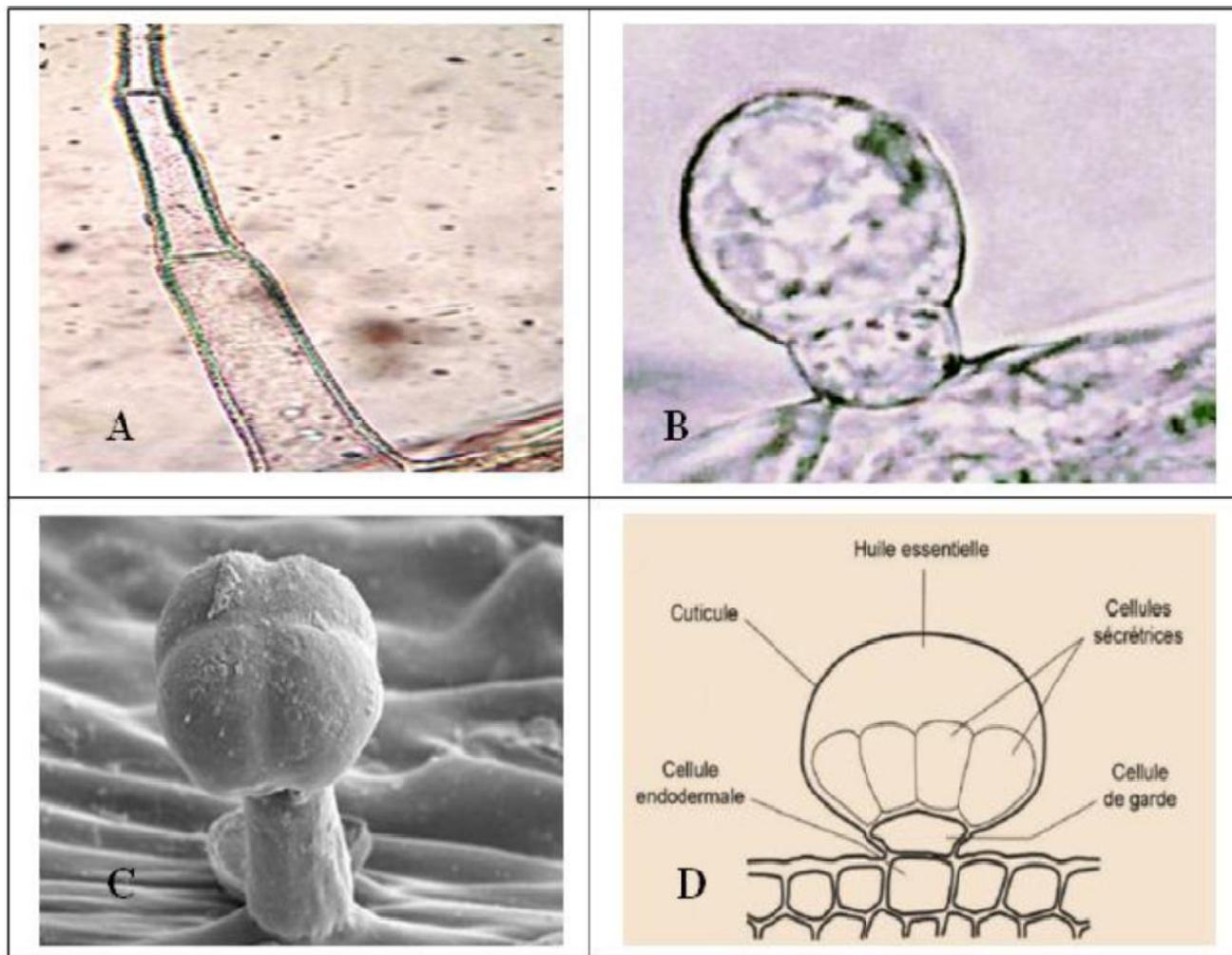
Toutes les parties des plantes aromatiques et compris leurs organes végétaux peuvent contenir de l'huile essentielle.

- les fleurs: oranger, rose, lavande ; le bouton floral (girofle) ou les bractées (ylang-ylang);
- les feuilles: eucalyptus, menthe, thym, laurier, sarriette, sauge, aiguilles de pin et sapin ;
- les organes souterrains: racines (vétiver, angélique), rhizomes (gingembre, acore) ;
- les fruits: fenouil, anis, épicarpes des Citrus ;
- les graines : noix de muscade;
- le bois et les écorces: cannelle, santal, bois de rose.

Les huiles essentielles sont stockées dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, cellules à poils sécréteurs -la menthe- et canaux sécréteurs) et ont vraisemblablement un rôle défensif : protection du bois contre les insectes et les champignons, action répulsive contre les animaux herbivores.

La concentration dans les plantes est en général faible, aux alentours de 1 à 2% voire

moins, mais il y a des exceptions comme le clou de girofle avec 15% d'huile essentielle ou la noix de muscade, 5-15%.



**Figure 05 :** Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles (Combrinck et al., 2007 ; Karray et al., 2009 ).

- (A) : poil sécréteur de *Mentha pulegium*,
- (B) : trichome glandulaire de *Mentha pulegium*,
- (C) : trichome glandulaire de *Lippia scaberrima*
- (D) : structure de trichome glandulaire de *Thymus vulgaris*.

### 3. Composition chimique

Les huiles essentielles représentent un mélange complexe de molécules chimiques qui peuvent comporter plus de soixante composants différents, parmi lesquels deux ou trois sont des composants majeurs constituant de 20 à 70% du mélange comparativement aux autres qui se trouvent le plus souvent sous forme de traces. A titre d'exemple, le carvacrol et le thymol sont les composants majeurs de l'huile d'*Origanum compactum*, le linalol pour *Coriandrum*

*sativum*, le menthol et le menthone pour *Mentha piperita* et le carvone pour l'huile de *Mentha spicata* L. Généralement ces composants majeurs déterminent les propriétés biologiques de l'huile essentielle (Bakkali et al, 2008).

La plupart des composants des HEs sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes, les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées (Amlan et Patra, 2010).

#### **4. Facteurs influençant la composition chimique (qualité)**

La composition chimique, la qualité et la quantité extraite d'une huile essentielle dépendent de plusieurs paramètres à savoir :

- Intrinsèques: les facteurs génétiques, la localisation et le degré de maturité
- Extrinsèques : le sol, le climat et l'environnement
- Technologiques : type de culture, mode de récolte et mode d'extraction.

Par conséquent la composition chimique d'une huile essentielle peut varier au sein d'un même genre botanique. Parfois ces variations peuvent s'observer au sein d'une même espèce, on parlera alors de chémotypes : il s'agit d'un polymorphisme chimique (Himed, 2011).

#### **5. Propriétés physiques**

Les huiles essentielles sont volatiles et liquides à température ambiante, ce qui les différencie des huiles fixes. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de sassafras, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels et elles sont liposolubles. Entraînables à la vapeur d'eau, elles sont très peu solubles dans l'eau et elles sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette (on parle d'eau aromatique) (Bruneton, 2008 ; Baser et Buchbauer, 2010).

#### **6. Activité antibactérienne des huiles essentielles**

Au cours des dernières décennies, la résistance développée par les microorganismes aux antibiotiques constitue un phénomène biologique délicat et la médecine se trouve incapable pour établir des solutions permanentes à ce problème. L'évolution des antibiotiques ne permet aux bactéries que de s'adapter et la recherche de nouvelles molécules actives et plus puissantes est indispensable. A cet égard, les produits naturels des plantes, à effet antimicrobien, ont gagné un grand intérêt (Essawi et Srour, 2000) et la recherche des agents bioactifs naturels pour combattre les infections est une nécessité absolue pour résoudre les

problèmes de résistance. Dans ce contexte, les huiles essentielles des plantes, qui se caractérisent par leur grande richesse de molécules naturelles tant en nombre qu'en variété, peuvent constituer une alternative à l'usage des antibiotiques inefficaces et ouvrir de nouvelles perspectives (Guinoiseau, 2010 ; Derwich et al., 2011). De plus, les huiles essentielles, comme agents antimicrobiens, sont des produits naturels qui assurent plus de sécurité pour les consommateurs et sont considérées moins risqué vis-à-vis de la résistance développée par les microorganismes pathogènes (Cardile et al., 2009).

Le spectre d'action des huiles essentielles est très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre. Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives (Cimanga et al., 2002 ; Tenore et al., 2011; Ben Mansour et al., 2013). Cependant, Burt (2004) a rapporté que les bactéries Gram+ ne sont pas toujours les plus sensibles aux huiles essentielles. A cet égard, il existe quelques exceptions. La bactérie Gram positive *Staphylococcus aureus* a été décrite résistante à l'effet de l'huile de *S. officinalis* et *T. algeriensis* (Hayouni et al., 2008 ; Hazzit et al., 2009). La bactérie Gram négative *Escherichia coli* est très sensible à l'huile de *S. officinalis* (Hayouni et al., 2008). Dans leur étude, (Nikolić et al., 2014) ont observé que la bactérie Gram positive *Staphylococcus aureus* et la bactérie Gram négative *Pseudomonas aeruginosa* sont toutes les deux sensibles à l'action de l'huile de *T. algeriensis*.

Par ailleurs, de nombreux travaux ont démontré que la souche bactérienne la moins sensible à l'effet des huiles essentielles de *S. officinalis*, *R. officinalis* et *T. algeriensis* est la bactérie Gram négative *Pseudomonas aeruginosa* (Longaray Delamare et al., 2007 ; Hayouni et al., 2008 ; Zaouali et al., 2010 ; Zouari et al., 2011).

## 7. Mode d'action des huiles essentielles

De façon générale, l'activité antibactérienne de plusieurs huiles essentielles testées est plus puissante sur les bactéries Gram positives que les bactéries Gram négatives (Longaray Delamare et al., 2007). Mais, le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement établi (Kalembe et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004). Les modes d'action des huiles essentielles et de leurs composés majeurs, décrits jusqu'à présent, semblent tous affecter la paroi cellulaire ou la membrane cytoplasmique de la cellule bactérienne (Guinoiseau, 2010). Compte-tenu de la variabilité des constituants chimiques présents dans les huiles essentielles, leur activité antibactérienne est attribuée à la combinaison de plusieurs modes d'action au niveau de la cellule bactérienne (Burt, 2004 ;

Guinoiseau, 2010).

Selon Burt (2004), l'action des constituants des huiles essentielles sur la cellule bactérienne réside dans l'augmentation de la perméabilité de la membrane cytoplasmique ce qui entraîne un relargage des éléments cytoplasmiques (ions et métabolites) et une fuite de protons, ce qui provoque une chute de la force protomotrice et une coagulation du cytoplasme. Si les constituants cytoplasmiques relargués sont indispensables à la survie de la bactérie et si leur perte est importante, cela provoque la mort de la cellule bactérienne (Guinoiseau, 2010).

*Chapitre III :*  
*Monographie*  
*de la menthe verte*  
*(Mentha spicata L)*

## 1. Histoire de la menthe verte

Le genre *Mentha* compte un très grand nombre d'espèces et les hybridations successives entraînent une certaine confusion dans leur identification. Il est donc impossible de mettre un nom botanique sur les espèces de Menthe évoquées dans l'Antiquité.

La menthe a été célébrée dans la mythologie grecque et latine au travers de la nymphe *Mentha*, la fille du dieu des rivières. Hadès, le dieu des enfers marié à Perséphone en tomba amoureux. L'épouse jalouse tua *Mentha* et la piétina jusqu'à la réduire en pièces. Hadès la transforma en plante aromatique qui séduisait par son parfum. La menthe fût alors considérée comme bénéfique contre le mal.

La plante était déjà connue des Égyptiens. Il a été retrouvé des fragments de plante séchée dans des tombeaux remontant aux XIII<sup>e</sup> et XVII<sup>e</sup> siècles av. J.-C., elle était utilisée pour la conservation des momies (Bourgeois, 2009). Probablement en raison de son fort arôme, la menthe était utilisée avec le myrte et le romarin durant les cérémonies funéraires, afin de masquer l'odeur des cadavres.

Les penseurs grecs étaient opposés à Aristote et Hippocrate qui disaient que la menthe tuait le courage tant elle incitait à l'amour et en interdisait donc l'utilisation par les soldats.

Le temps leur a donné raison mais c'est loin d'être sa seule vertu (Sommerard, 2012). Dioscoride et Pline affirmaient qu'elle constituait un facteur de stérilité : « la menthe tue le fœtus et s'oppose à la reproduction en empêchant la coagulation du sperme (Staub, 2013).

A la fin du VIII<sup>e</sup> ou au début du IX<sup>e</sup> siècle, Charlemagne a fait rédiger un ordonnancement, le capitulaire De Villis (« Capitulare Caroli Magni de villis vel curtis imperia libus ») par un moine bénédictin, l'abbé Ansegis (Teuscher, 2005). Il regroupe un certain nombre d'ordres ou de recommandations à l'intention des gouverneurs de ses domaines. Cet acte législatif est surtout connu pour son article 70 qui contient la liste d'une centaine de plantes que les domaines royaux, les monastères et les fermes, doivent cultiver et où l'on retrouve la culture de la menthe. Trois cultures sont mentionnées pour les domaines impériaux : *Sisymbrium*, *Menta* (une « menthe sauvage ») et *Mentastrum*. La thérapeutique du Moyen-âge fait fréquemment appel à ces diverses espèces, le *Sisymbrium* représentant approximativement la menthe verte (Fournier, 2010). Elle était utilisée pour traiter les rhumes ou certains troubles digestifs. Le terme de menthe apparaît en 1275 dans la littérature française.

Au XVI<sup>e</sup> siècle, les menthes sont encore utilisées pour de multiples emplois qui en faisaient une véritable thérapeutique, tandis qu'elles ont ensuite progressivement atteint un

rôle secondaire, qui est aujourd'hui le leur. La menthe verte est actuellement utilisée surtout en Angleterre, aux États-Unis, au Moyen et Proche-Orient, dans les Balkans, en France et en Inde, principalement comme épice, surtout en accompagnement de plats salés.



**Figure 06 :** la Menthe.

## 2. Origine

Les origines de la menthe sont encore bien imprécises, la zone géographique de départ étant un des rares faits où les auteurs se retrouvent : elle viendrait d'une vaste région englobant le nord de l'Afrique, le bassin méditerranéen, l'Europe et le Proche-Orient. Elle fut introduite en Grande-Bretagne par les Romains. Elle s'est ensuite diffusée sur l'ensemble du globe, jusqu'en Amérique du Nord, au Japon et en Australie. Elle pousse naturellement au Maroc.

Elle est aujourd'hui retrouvée partout dans le monde, d'ailleurs elle est parfois considérée comme envahissante. La diversité des sols et les multiplications ont donné de nombreuses espèces, certaines études ont d'ailleurs montré que *Mentha spicata* serait le résultat d'une hybridation entre *Mentha longifolia* et *Mentha suaveolens*.

## 3. Usages de la menthe

En générale une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'au moins une de ses parties (feuille, tige, racine, etc.) peut être employée dans le but de se soigner. Elles sont utilisées depuis au moins 7 000 ans avant notre ère par les Hommes et sont à la base de la phytothérapie (Ann Arbor, 1990).

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents. À noter qu'il a été observé chez des grands singes la consommation de certaines plantes à usage thérapeutique.

### 3.1. Usages médicinales de la plante

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

Il est aussi possible de s'en servir en inhalation après avoir réalisé une décoction avec celle-ci. Ses caractéristiques rafraîchissantes seraient idéales pour les voies respiratoires et auraient des effets décongestionnants (Nicolas Jean-Baptiste, 1826).

### 3.2. La menthe en automédication

La menthe offre l'opportunité de lutter d'une façon naturelle contre divers maux sans effets secondaires. Très employée en phytothérapie, la menthe possède de nombreuses facultés anti-oxydantes et serait, selon des chercheurs, efficace contre le mauvais cholestérol. L'automédication n'est pas déconseillée car l'emploi des propriétés de la plante permet d'obtenir de bons résultats sans aucun effet négatif majeur sur la santé. Néanmoins, il faut quand même éviter les abus car une prise trop conséquente en infusion peut entraîner des insomnies surtout si elle est consommée le soir. On peut confectionner soi-même de l'huile de massage avec de la menthe, elle s'avère idéale pour lutter contre les douleurs (Baudoux et Zhiri, 2006).

### 3.3. L'utilisation des menthes dans l'industrie alimentaire

Les huiles essentielles obtenues des menthes sont connues depuis l'antiquité pour leur utilisation dans l'amélioration de la saveur des aliments, comme en confiseries et liqueurs. L'arome mentholé, isolé de la menthe en épi, la menthe poivrée et la menthe des champs, est probablement le 3ème plus important arôme utilisé après la vanille et le citron (Maftai, 1992). De ce fait, les menthes sont parmi les plus importantes herbes commercialisées, cultivées pour la production des feuilles séchées en Allemagne, Espagne, Pologne, Bulgarie, Égypte, Maroc, Grèce, Angleterre, Turquie, Niger et en Chine (Hayes et al., 2006).

A part la confiserie, les huiles de menthe et leurs isolats sont utilisés dans les boissons alcoolisées et non alcoolisées. On peut également les trouver comme aromatisants dans les produits congelés, comme les glaces, les produits de boulangerie, nappage, glaçage, sauces et garniture. L'huile de menthe verte est utilisée dans la préparation de la gelée de menthe (Hayes et al., 2006). Les menthes aussi démontrées une efficacité dans la conservation des aliments en prolongeant la durée de vie de la viande et des produits de chair (Najeeb et al., 2015 ; Kanatt et al., 2008).

#### 4. Étude de l'espèce : *Mentha spicata* L.

##### 4.1. Définition

*Mentha spicata* L est une herbe aromatique qui appartient à la famille des lamiacées (Abootalebian et al., 2016), ces dernières sont très homogènes et faciles à identifier (Brahmi, 2016). Son nom vernaculaire en arabe « Naànaa », en anglais « spearmint » (Zekri, 2016), et en français « menthe verte ». *Mentha spicata* L pousse spontanément dans les zones tempérées et elle est cultivée partout dans le monde (Laggoune et al., 2016).

##### 4.2. Description

*Mentha spicata* L est une plante vivace et rampante (Bremness, 2011). Elle se caractérise par une tige carrée droite et verte, qui ne dépasse pas plus d'un mètre de longueur, ses feuilles sont d'un vert foncé, opposées, sessiles, subsessiles et allongées à ovales ou lancéolées de 5 à 9 cm de longueur et de 1.5 à 3 cm de largeur (Senoussi, 2015), ses fleurs comportent un calice en forme de clochette; glabre ou cilié, divisé en 5 dents, une corolle violette pale, rose ou blanche, 4 étamines saillantes de taille identiques, un ovaire super et divisé en deux loges renfermant chacune deux ovules (Brahmi, 2016) .



Figure 07 : Photographies des parties aériennes de *Mentha spicata* L (originale).

### 4.3. Systématique

Le tableau suivant représente la systématique de *Mentha spicata L*.

**Tableau 03 :** Taxonomie de *Mentha spicata L* (Moon et al., 2009 ; Lansdown, 2014).

Rang taxonomique	Nomenclature
Règne	Plantea
Sous règne	Trachéophytes
Classe	Dicotylédones
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Sous-famille	Nepetoideae
Tribu	Mentha
Sous-tribu	Menthinae I
Genre	<i>Mentha</i> .
Espèce	<i>Mentha spicata L</i> .

### 4.4. Composition biochimique

Le tableau suivant montre la composition biochimique de *Mentha spicata L* de l'Algérie.

**Tableau 04:** Composition biochimique de *Mentha spicata L* (Brahmi et al., 2016).

Les huiles essentielles	
Carvone , limonene, 1.8-cineole, $\beta$ -Caryophyllene germacrene D.	
Composés phénoliques	
<b>Acides phénoliques :</b>	Acide 4-hydroxy benzoïque, Acide caféique, Acide $\alpha$ -coumarique, Acide chlorogénique et Acide rosmarinique.
<b>Flavonoïdes :</b>	rutine, naringénine, luteoline, diosmine, kaempferole et diosmetine.
Autre composés	
Esters méthilique d'acide gras, triglycéride, squalène, stigmastérol, Sitostérol, acide oléanolique, ursolique et pomolique Caroténoïdes, alcaloïde, saponine.	

#### 4.5. Utilisations

*Mentha spicata L* est la plus ancienne herbe médicinale (Nanekarani et al., 2012). Grâce à ses propriétés thérapeutiques (antifongique, antivirale, antimicrobienne, insecticide et antioxydant) (Almeida et al., 2012), les feuilles de cette plante ont été utilisées traditionnellement pour le traitement de plusieurs maladies (rhume, spasmes, crampes, troubles digestives, fièvre, maux de tête, bronchite, nausée, rhumatisme, troubles gastro-intestinaux et douleurs des dents). L'huile de cette menthe est utilisée comme un arôme dans des dentifrices, chewing-gum, savons et aussi dans des soupes, parfumeries, détergents et pesticides (Soysal, 2005 ; Brahmi et al., 2012).

#### 4.6. Activités biologiques

Divers études ont montré que *Mentha spicata L* possède plusieurs activités biologiques grâce à sa richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles (Bagheri et al., 2014 ; Abootalebian, 2016 ; Alaei et al., 2016).

#### 4.7. Activité antioxydante

Brahmi et al. (2015) ont démontré *in vitro* que l'extrait éthanolique des feuilles de *Mentha spicata L* est un très bon scavenger du radical DPPH (2,2-diphényl-1-picryl hydrazyl) ( $IC_{50}=16,2 \pm 0,2 \mu\text{g/ml}$ ).

#### 4.8. Activité antibactérienne

Barchan et al. (2015) ont démontré par la technique de diffusion en puits que les souches *Listeria monocytogenes* 4031, *Enterococcus hirae* 4081, *Staphylococcus aureus* 976 sont sensibles vis-à-vis des extraits méthanoliques des feuilles de *Mentha spicata L* avec des diamètres supérieurs à 12 mm.

#### 4.9. Activité cytotoxique

L'extrait aqueux des feuilles de *Mentha spicata L* a des effets cytotoxiques, sur les deux cellules tumorales fibrosarcome (Wehi-164) et monocyte leucémie (U937), qui ont été évalués *in vitro* (Hajighasemi et al., 2011).

#### 4.10. Exigences écologiques de la menthe vert (*Mentha spicata L*)

##### a) Photopériode et température

La menthe verte n'a pas d'exigence stricte en matière de photopériode. Elle supporte les endroits ombragés (Elfadl 2002). Elle est cultivée en régions tempérées, en terrains humides

et ombragés, mais elle supporte le froid (Paris, 1971). Elle ne semble pas très exigeante car elle fleurit depuis le nord jusqu'au Sahara. La croissance végétative est fortement diminuée en période froide (photopériode inférieure à 10 heures et températures inférieures à 10°C au minimum et 25°C au maximum). La sensibilité de la menthe à la température est accentuée par le caractère vivace de la plante qui peut subsister pendant plus de 10 ans. Des observations sur le terrain ont montré que des températures maximales de l'ordre de 30°C donnent une croissance optimale, pour autant que la fertilisation azotée et l'irrigation soient suffisantes (Elfadl, 2002).

#### **b) Nature du sol**

Le système racinaire de la menthe est peu profond, il exige donc un sol peu compact, perméable et légèrement argileux. Sa culture réussit particulièrement bien dans les sols profonds non compacts, riches en humus et bien drainés à pH allant de 5,5 à 8. Un sol trop acide pourra subir un chaulage alors qu'un sol trop calcaire sera rejeté (Aumont, 1993). Le sol ne doit pas être trop humide car il favoriserait l'attaque de la plante par la rouille.

#### **c) Altitude**

La menthe peut être cultivée en climat montagnard, tempéré, humide, jusqu'à 900-1000m d'altitude et en climat montagnard méditerranéen à condition d'arroser la sécheresse d'été (Guenther, 1984). En Espagne, Munoz (1987) conclut que le meilleur rendement est obtenu entre 1000 et 1500 m d'altitude (FAO, 2010).

*Partie  
expérimentale*

*Chapitre VI :*  
*Matériel et méthodes*

## 1. Matériel végétal

### 1.1. Récolte de la plante

L'étude expérimentale a été réalisée sur la partie aérienne séchée (feuilles et sommités fleuries) de *Mentha spicata L.* récolté de la région d'El-Edrissia (Znina) de la wilaya de Djelfa (Algérie) au mois de décembre 2018. L'espèce étudiée a été identifiée par **Pr. Laouar A.**, laboratoire de valorisation des ressources biologiques naturelles, faculté des sciences; UFA - Sétif, Algérie.

La situation géographique ainsi que l'étage bioclimatique de la station sont représentés dans le tableau 05 et la figure 08.

**Tableau 05 :** Caractéristiques géographiques et bioclimatiques de la région de récolte (Anonyme 1, 2019).

Lieu de récolte	Étage bioclimatique	Altitude (m)	Latitude (m)	Longitude (m)
<b>El-Edrissia</b>	Climat semi-aride sec et froid (Classification de Köppen: BSk)	1071	34° 26' 54" Nord	2° 31' 44" Est



**Figure 08 :** Situation géographique de la station d'étude (ANIREF, 2011).

### 1.2. Séchage et broyage

La partie aérienne de la plante, fraîchement récoltée, est séchée dans un endroit sec, aéré et à l'ombre pendant environ deux semaines. Elle est coupée, par suite, en petits morceaux à l'aide d'un broyeur électrique.



**Figure 09:** Feuilles et fleurs de *Mentha spicata* L. après séchage.

## 2. Matériel du laboratoire

### 2.1 Verrerie

- Ballons de 1000 ml et 500 ml à fond rond
- Erlenmeyer de 250 ml
- Éprouvette graduée
- Ampoule à décanter
- Pipettes Pasteur, pipettes de 10 ml (graduation de 0,1 ml )
- Tube à vice
- Entonnoirs
- Béchers
- Burette de 25 ml
- Fioles 250 ml
- Tubes de prélèvement avec bouchon

### 2.2. Produits chimiques

- Éthanol
- Eau physiologique
- $MgSO_4$
- Éther di-éthylique
- Eau distillée
- Hexane
- Méthanol
- chloroforme

### 2.3. Appareils

- Chauffe-ballon
- Rotavapor
- Agitateur magnétique (AREC)
- Vortex
- Spectrophotomètre
- Autoclave
- Étuve
- Balance
- Hotte biologique
- Clevenger
- Micropipettes

### 2.4. Autres

- Papier filtre
- Boîtes de Petri
- Bec bunsen
- Disques en papier
- Cuvettes
- Écouvillons
- Pince
- broyeur électrique
- Anse de platine

### 2.5. Milieux

- Gélose nutritive (GN)
- Gélose Mueller Hinton ( MH )

### 2.6. Souches

- *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300)
- *Enterobacter cloacae* (ATCC 13047)
- *Escherichia coli* (ATCC 25922)

## 2.7. Les antibiotiques

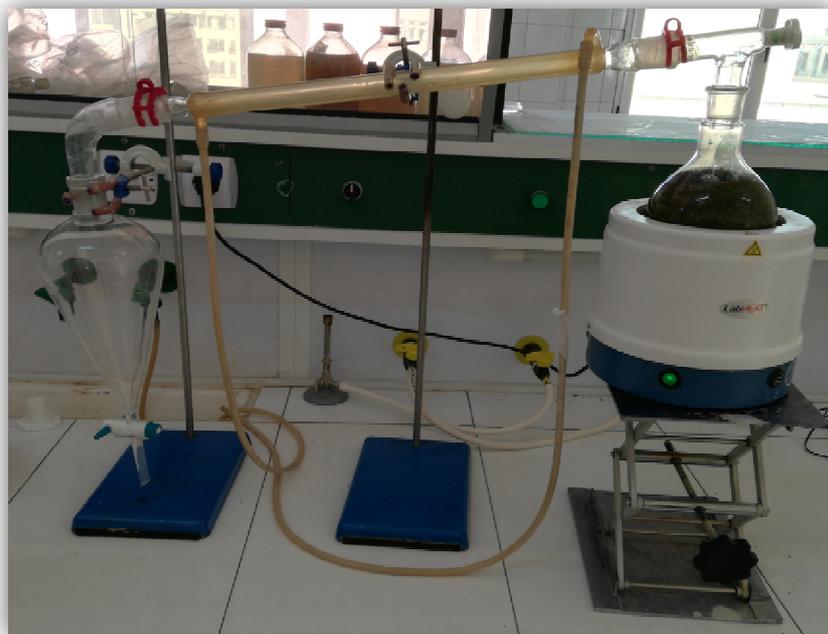
- Tobramycine (TOB 10)
- Netilmicine (NET 30)
- Chloramphénicol (C 30)

## 3. Extraction de l'huile essentielle

### a- Hydrodistillation

La matière végétale (50 g), constituée des parties aériennes (feuilles et sommités fleuries) d'espèce étudiée, est introduite dans un ballon de 1 L rempli d'eau jusqu'aux 2/3 de sa capacité. Ce dernier est ensuite mis à ébullition pendant 2 heures. Sous l'action de la chaleur, les cellules sécrétrices de l'huile essentielle éclatent et libèrent des composés organiques volatils. La vapeur d'eau formée entraîne avec elle les composés organiques à l'état gazeux vers le réfrigérant où ils se condensent sous forme de gouttelettes. L'eau et l'huile essentielle se séparent par différence de densité en deux phases :

- Phase organiques : huileuse et très odorante appelée « huile essentielle » contenant la majorité des composés odorants.
- Phase aqueuse : odorante appelée « eau aromatique » contenant que très peu des composés odorants.



**Figure 10 :** Montage d'hydrodistillation.

**b - Extraction liquide-liquide**

À cette phase, on verse le distillat obtenu dans une ampoule à décanter de 1 L et on ajoute une quantité suffisante du solvant (éther di-éthylique) (v/v). Ensuite, on agite énergiquement le mélange puis on dégaze et laisse reposer jusqu'à l'obtention de deux phases : une phase supérieure (phase organique) qui est le mélange huile-solvant et une phase aqueuse représente l'eau. Enfin, on sépare les deux phases dans deux récipients différents.



**Figure 11 :** Extraction liquide-liquide.

**c - Déshydratation de la phase organique**

La phase organique séparée de l'eau aromatique est déshydratée par le sulfate de magnésium anhydre ( $\text{MgSO}_4$ ), qui a pour rôle d'absorber les traces d'eau restantes.



**Figure 12:** Le  $\text{MgSO}_4$  anhydre.

#### d - Évaporation rotative

Pour récupérer l'huile essentielle brute, il ne reste plus qu'à évaporer le solvant. Cela se fait à l'évaporateur rotatif. L'huile est récupérée dans un tube opaque et conservée à 4°C.



Figure 13 : Évaporateur rotatif.

#### f - Calcul du rendement

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en huile essentielle ( $R_{HE}$ ) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction ( $M'$ ) et la masse de la matière végétale utilisée ( $M$ ). Le rendement est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R_{HE} (\%) = (M'/M) \times 100$$

#### 4. Procédés d'extraction

Le protocole extractif a été effectué selon la méthode d'Upson et al. (2000) et comporte les étapes suivantes :

- **Extrait aqueux**

10 g de poudre des feuilles de la menthe ont été macérés dans 150 ml d'eau distillée et à ébullition (chauffage à reflux) pendant 2 h. Après filtration sur papier Whatman n°3 chaque résidu est par suite évaporé à sec à 45°C pendant 24 h dans une étuve.



**Figure 14:** Extraction sous reflux des feuilles de *Mentha spicata* L.

- **Extrait par différents solvants**

La poudre végétale (20 g) est macérée 3 fois pendant 24 heures dans 200 ml d'un mélange méthanol pure-eau (7:3 v/v) ou, puis filtré sur papier filtre Whatman n° 3. Le filtrat est ensuite évaporé sous pression réduite à 45°C au rotavapeur pour éliminer le méthanol et réduire le volume de la solution aqueuse. Le résidu obtenu est séché dans l'étuve à 45°C puis conservé à 4°C jusqu'à son utilisation.



**Figure 15 :** Extrait méthanolique obtenu.

L'extrait sec de couleur noire (5g) est ensuite récupéré à l'eau bouillante (100 ml) et laissé décanter au réfrigérateur (4°C) 24 heures puis filtré. Le filtrat ainsi obtenu subi une extraction à l'hexane (50 ml) qui permet d'entraîner les graisses ainsi que la chlorophylle. Une deuxième extraction a été réalisée avec le chloroforme (100 ml) qui permet la solubilisation des

métabolites secondaires. Cette extraction est réalisée pendant 30 minutes et l'opération est répétée trois fois.



Figure 16 : Extraction liquide-liquide.

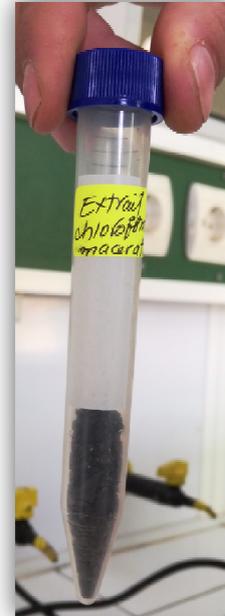


Figure 17 : Extrait sec chloroformique.

#### 4.1. Calcul du rendement

Le rendement des différents extraits obtenus est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétal utilisée. Ce rendement est calculé par l'équation suivante (Carré, 1953) :

$$R(\%) = (Me / Mv) \times 100$$

**R (%)** : Rendement en %,

**Me** : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant,

**Mv** : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction.

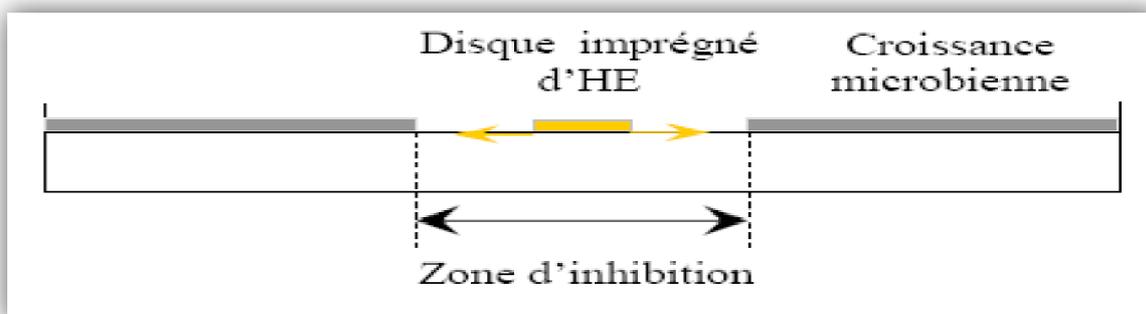
#### 5. Test de l'activité antibactérienne des extraits de *Mentha spicata L.*

Les HEs les plus fréquemment étudiées dans la littérature pour leurs propriétés antibactériennes et antifongiques appartiennent à la famille des Labiacée : menthe, thym, lavande, romarin, etc. (Lahrach, 2005). L'essence de la menthe est souvent rapportée parmi les huiles les plus actives (Harnandez, 2005).

### 5.1. Test d'antibiose

Pour réaliser ces tests concernant la sensibilité des microorganismes (bactéries) à l'huile essentielles ou aux extraits de la plante étudiée, nous avons adopté la méthode de la diffusion sur gélose appelée aromatoگرامme qui est l'équivalent de l'antibiogramme, les disques des antibiotiques sont remplacés par des disques de papier Wattman imprégnés d'extraits.

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide dans une boîte de Petri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible. L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Hellal, 2001).



**Figure 18 :** Schéma simplifié le principe de la méthode de l'aromatoگرامme.

Les trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Enterobacter cloacae*) choisies au cours de cette étude sont à l'origine de plusieurs infections (urinaire, intestinale, respiratoire, etc.).

### 5.2. Les milieux de cultures utilisés

Les milieux de cultures utilisés dans ces tests sont les suivants :

- La gélose nutritive (GN), elle utilisée pur la préparation de l'inoculum
- La gélose Meuler Hinton, pour les tests de l'activité antibactérienne

NB : La composition est citée dans l'annex.

### 5.3. Mode opératoire

Pour mesurer l'effet antibactérien de l'huile essentielle à étudier on a suivi les techniques citées ci-dessous. Notant que pour assurer la réussite du travail de point de vue technique, il doit être effectuée dans des conditions strictes de stérilité.

Le but de notre expérience est la recherche du pouvoir antibactérien des HEs infusées et des extraits pour évaluer la meilleure dose utilisée.

- Utiliser des volumes croissants de DMSO (Le diméthylsulfoxyde) pour solubiliser l'HEs et les extraits v/v (les dilutions sont : 1; 1/2; 1/10).
- Tester les antibiotiques seuls.
- Tester l'activité d'HE et les extraits de la menthe vis-à-vis des bactéries.

#### **a. Préparation de milieu de culture**

Avant son utilisation le milieu de culture doit être préparé, en faisant couler ce milieu après sa liquéfaction dans des boîtes pétri, et les laisser se solidifier à température ambiante puis les conserver jusqu'à leur usage à l'abri de tout genre de contamination (Lahrach, 2005).

#### **b. Inoculum**

A partir d'une culture pure et jeune de 18 h sur gélose nutritive, on prélève à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques et les décharger dans 9 ml d'eau physiologique stérile ; la suspension bactérienne obtenue doit être bien homogénéisée et ce à l'aide d'un vortex, et sa densité optique doit être comprise entre 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde égale à 625 nm.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort. L'ensemencement doit se faire juste après la préparation de l'inoculum.

#### **c. Ensemencement**

- Le milieu de culture utilisé est MH, qui est le seul le plus employés pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne,
- L'essorer en le pressant fermement, et tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum,
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en striés serrés,
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de Pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose,
- Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes pétri il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

#### d. La préparation des disques

- Les disques sont fabriqués à partir de papier Wattman avec un diamètre de 6 mm et stérilisés préalablement à la chaleur humide.
- Imprégner les disques à raison de 50 µl par disque d'HE et des extraits (après dilutions), d'autres disques par des antibiotiques (ATB) de comparaison et un disque par DMSO, ce dernier est considéré comme témoin.
- Déposer les disques (ATB ou papier Wattman) préparés préalablement sur la surface ensemencée en l'appliquant délicatement à l'aide d'une pince stérile. Ces disques sont placés de telle manière que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

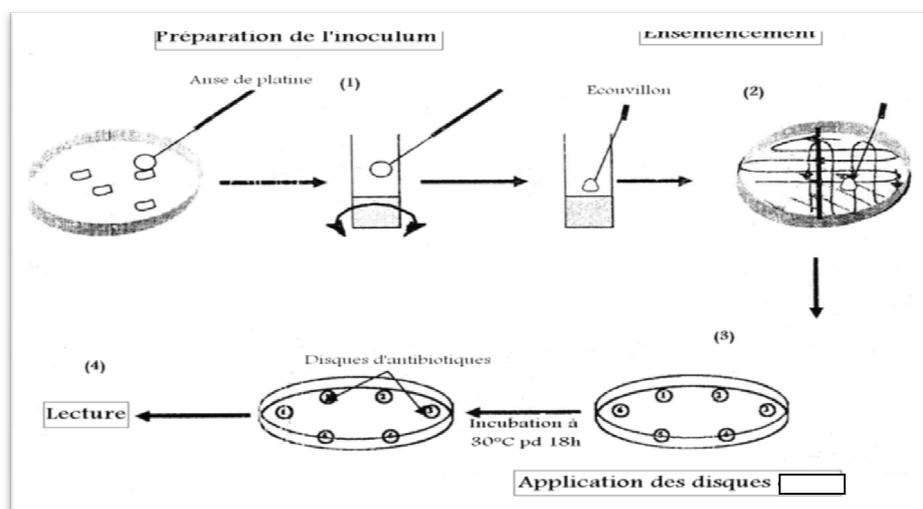
#### e. Incubation

Après la diffusion d'HE /extraits et DMSO dans la gélose sur les disques de papier (les boîtes de pétri sont d'abord lissées pendant 1-2 h à 4°C pour faciliter la diffusion), toutes les boîtes sont incubées à 37°C pendant 18-24 h.

#### f. Lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis d'HE et d'extraits (Ponce et al., 2003).

- Non sensible (-) ou résistant : diamètre < 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 et 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 et 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.



**Figure 19** : Technique de l'antibiogramme par la méthode de diffusion en disque.

## **6. Exploitation statistique des résultats**

Les résultats sont représentés sous forme de moyenne  $\pm$  SD et ils ont été effectués à l'aide du programme Microsoft Office Excel 2007.

*Chapitre V :*  
*Résultats et discussion*

## .V. Résultats et Discussion

### 1. Résultats de l'extraction d'HE de *Mentha spicata* L.

#### 1.1. Propriétés organoleptiques de l'HE

Les huiles essentielles renferment plusieurs composés : les phénols, les cétones et les hydrocarbures terpéniques qui leurs confèrent divers caractères. Parmi eux ceux qui font impression sur les organes de sens, plus particulièrement sur le gout, l'odorat et la couleur : ils ont été groupés sous la qualification d'organoleptiques. Nous avons donc noté l'aspect, l'odeur et la couleur de l'huile essentielle de la menthe.

D'après les nos résultats, l'huile essentielle obtenue est un liquide limpide incolore à jaune pâle avec une odeur herbacée fraîche et forte. Ces résultats sont semblables à ceux trouvés dans la littérature (Bardeau, 2009 ; Sylvain, 2010).



**Figure 20 :** HE de *Mentha spicata* L.

#### 1.2. Évaluation du rendement de l'extraction

Le rendement de l'HE obtenue par hydrodistillation est estimé à :

$$R_{HE} (\%) = (1.13 / 50) \times 100$$

$$R_{HE} (\%) = 2.26 \%$$

Le rendement obtenu ( $2.26 \pm 0.014$ ) est plus haut que ceux trouvés dans d'autres régions, Bejaia avec un rendement de 1.1% (Brahmi et al., 2016), Sétif de 0.9% (Boukhebti et al., 2011) et Saida de 1.3% (Allali et al., 2013). Ces variations de teneurs peuvent être dues à plusieurs facteurs notamment la saison de récolte et les conditions environnementales

(Hussain et al., 2010) ; l'écotype, la phénophase, la température, l'humidité relative, la photopériode, l'éclairement, le génotype et les conditions agronomiques (plantation, temps de récolte et densité des cultures) ( Snoussi et al., 2015).

## 2. Rendement des extraits

Les résultats obtenus montrent que le rendement en extrait aqueux de l'ordre de 20.1 % est supérieur par rapport à l'autre extrait du chloroforme (16.6 %). Nous expliquons cette variation du rendement entre les extraits bruts dans notre étude au solvant d'extraction ainsi que la nature des composés présents dans notre plante.

## 3. Résultats de l'activité antimicrobienne

L'utilisation des plantes médicinales est aujourd'hui la forme de médecine la plus répondue à travers le monde. Le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des plus grandes préoccupations scientifiques.

De ce fait, plusieurs travaux ont été réalisés pour l'évaluation des secrets des plantes médicinales dont la présente étude qui est consacré à la recherche d'éventuels effets antimicrobiens à partir des huiles essentielles et des extraits d'une espèce locale de menthe : *Mentha spicata L.*

### 3.1. Aromatogramme de *Staphylococcus aureus*

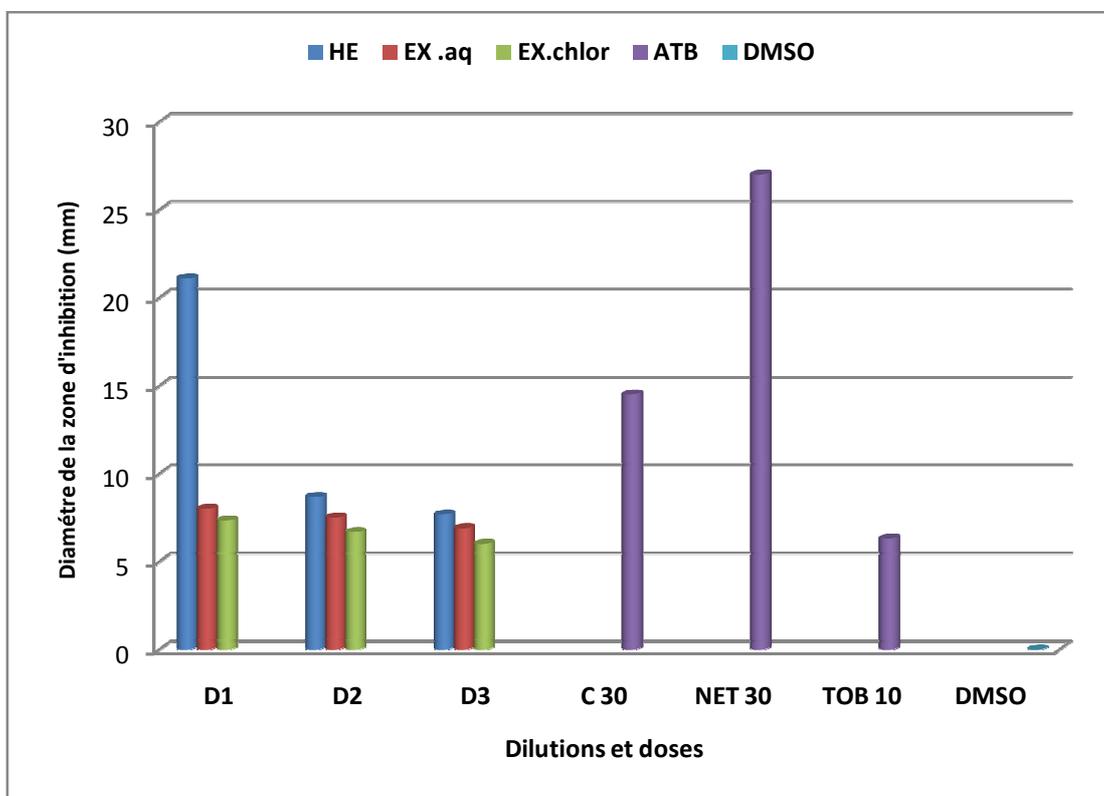
Selon les résultats de l'aromatogramme présentés dans le tableau 06 et les figures 21 et 22, nous avons remarqué que l'huile essentielle de *M. spicata L.* en D1 (état pure) possède le même pouvoir antibiotique que NET 30 (diamètre d'inhibition = 27 mm) avec un halo d'inhibition de 21.1 (mm) de diamètre. Une étude sur la composition de l'huile essentielle de la même espèce récoltée au Pakistan (Hussain, 2010), a également étudié l'efficacité antimicrobienne montre que l'HE, riche en Carvone (59 à 63%), stoppe la croissance de *Staphylococcus aureus* à une concentration de 78 à 80 µg/ml (Concentration Minimale Inhibitrice : CMI ).

**Tableau 06 :** Diamètre des zones d’inhibition de *S. aureus*.

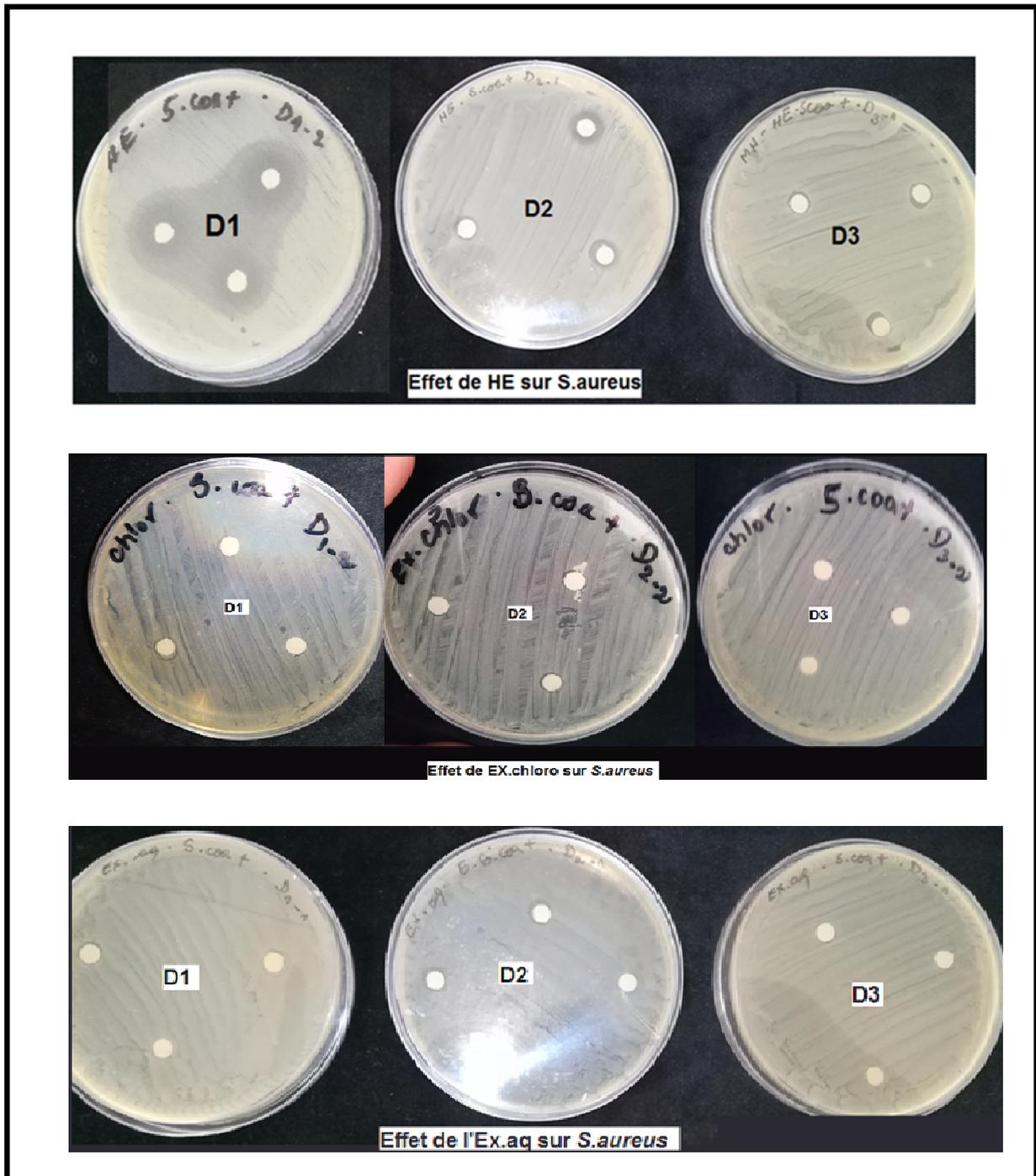
	Dilution ou dose	Halos (mm)
HE	D 1	21.1 ± 1.15
	D 2	8.67 ± 1.52
	D 3	7.67 ± 0.57
Extrait aqueux	D 1	8 ± 0.97
	D 2	7.5 ± 1.32
	D 3	6.89 ± 0.71
Extrait du chloroforme	D 1	7.33 ± 1.15
	D 2	6.67 ± 0.65
	D 3	6 ± 0.29
Antibiotiques	C 30	14.5 ± 0.35
	NET 30	27 ± 1.41
	TOB 10	6.3 ± 1.90
DMSO	/	

NB : Le diamètre du disque est inclus.

D’autre part, l’HE en D1 a un effet antibactérien sur le germe plus grand que le C30 (un effet léger, zone d’inhibition égale à 14.5 mm) et TOB 10 (diamètre de l’halo = 6.3 mm). Pour les autres dilutions d’huile (D2, D3) pas de formation d’ halos d’inhibition (trop petits). La bactérie est résistante aux extraits de l’espèce étudiée ainsi qu’au DMSO.



**Figure 21 :** Distribution des diamètres des zones d’inhibition de *S. aureus* en fonction d’HE, des extraits de *Mentha spicata L*, des antibiotiques et de DMSO.



**Figure 22:** Action d'HE et des extraits de *Mentha spicata L.* sur *S. aureus*.

### 3.2. Aromatogramme d'*Enterobacter cloacae*

En comparant les résultats figurés dans le tableau 07 et la figures 23 et 24 de l'activité antibactérienne, on a constaté que l'huile essentielle étudiée et l'extrait aqueux ont la même efficacité que TOB10 (seulement en dilution D1) d'où le diamètre de la zone d'inhibition est 12.5 (mm) et 12.33 (mm), respectivement.

Tableau 07 : Diamètre des zones d'inhibition d'*E. cloacae*.

	Dilution ou dose	Halos (mm)
HE	D 1	12.5 ± 1.4
	D 2	8.67 ± 0.58
	D 3	8.33 ± 0.57
Extrait aqueux	D 1	12.33 ± 1.15
	D 2	6.67 ± 0.57
	D 3	6.1 ± 0.05
Extrait du chloroforme	D 1	6 ± 0.11
	D 2	6.2 ± 0.32
	D 3	6 ± 0.11
Antibiotiques	C 30	26 ± 1.41
	NET 30	21 ± 0.35
	TOB 10	13 ± 1.4
DMSO	/	

NB : Le diamètre du disque est inclus.

De plus, *E. cloacae* est extrêmement sensible aux C30 (zone d'inhibition= 26 mm) et au NET 30 (zone d'inhibition = 21 mm). En pareille que *S. aureus*, cette espèce résiste l'activité d'extrait chloroformique et de DMSO.

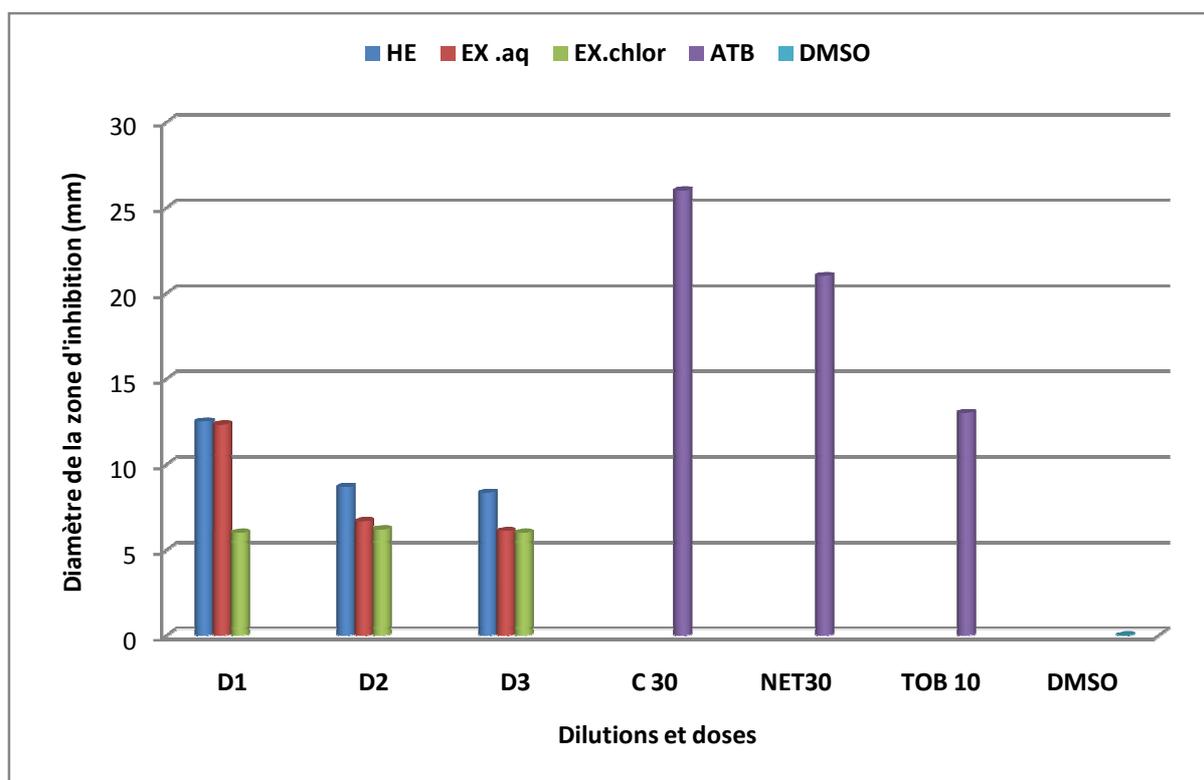


Figure 23 : Distribution des diamètres des zones d'inhibition d'*E. cloacae* en fonction d'HE, des extraits de *Mentha spicata L*, des antibiotiques et de DMSO.

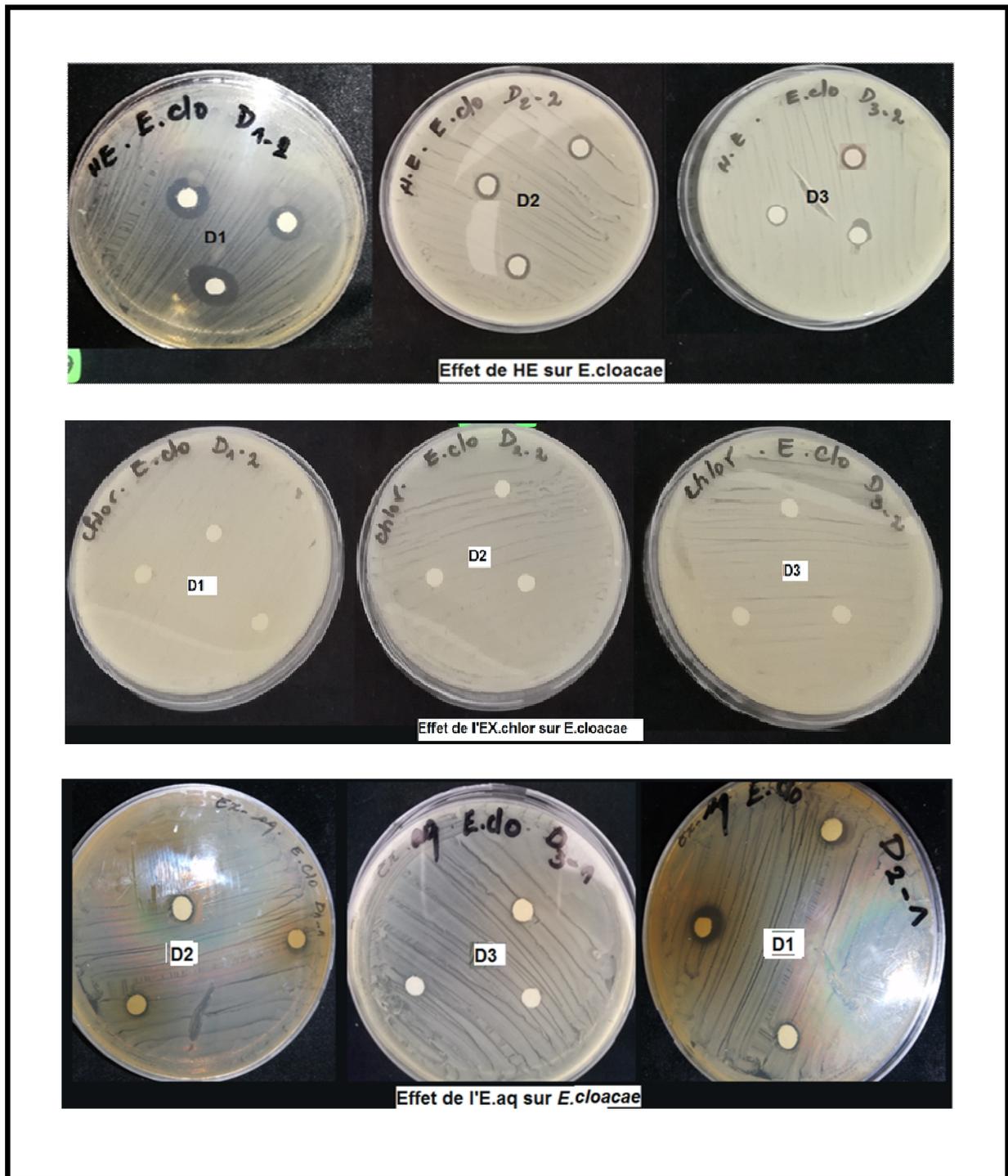


Figure 24: Action d'HE et des extraits de *Mentha spicata L.* sur *E. cloacae*.

### 3.3. Aromatogramme d'*Escherichia coli*

L'analyse des données de ce travail a révélé que l'huile essentielle de *M. spicata L.* en D1 (HE pure) a un effet plus efficace que TOB 30 vis-à-vis d'*Escherichia coli* avec formation d'une zone d'inhibition de 12.67 mm. Les autres dilutions d'huile essentielle et d'extrait aqueux (D2, D3) n'ont aucun effet notable. L'extrait chloroformique (D1, D2, D3) n'a pas

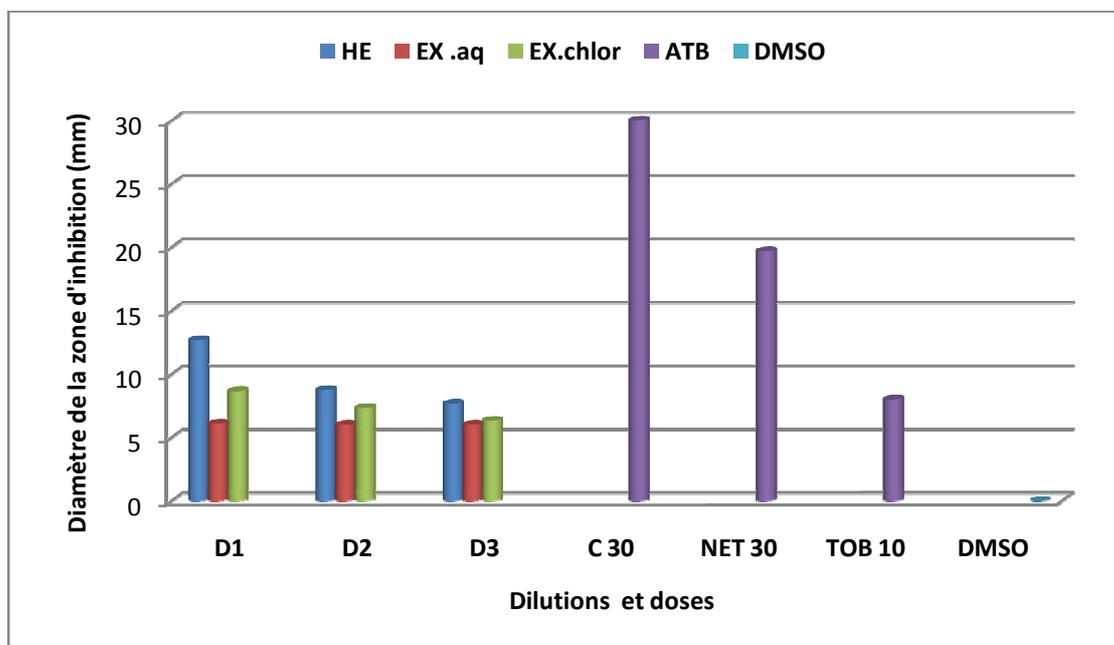
de pouvoir inhibiteur vis-à-vis de cette espèce. Par ailleurs, *Escherichia coli* est très sensible au C30, NET 30 (diamètre d'inhibition est de 30 et 20 (mm), respectivement) et résistante au DMSO (Tableau 08 et les figures 25 et 26).

**Tableau 08** : Diamètre des zones d'inhibition d'*E. coli*.

	Dilution ou dose	Halos (mm)
HE	D 1	12.67 ± 1.1
	D 2	8.7 ± 0.5
	D 3	7.67 ± 0.51
Extrait aqueux	D 1	6.1 ± 0.32
	D 2	6 ± 0.69
	D 3	6 ± 0.2
Extrait du chloroforme	D 1	8.60 ± 0.47
	D 2	7.33 ± 1.14
	D 3	6.33 ± 1.1
Antibiotiques	C 30	30 ± 1.4
	NET 30	20 ± 1.76
	TOB 10	8 ± 1.06
DMSO	/	

NB : Le diamètre du disque est inclus.

Selon notre étude *Escherichia coli* est l'espèce la plus résistante à l'huile essentielle et aux extraits de la menthe ce qui est confirmé par une autre étude qui montre que les composants chimiques de *M. spicata* (le Carvone essentiellement) est inefficace contre la membrane externe d'*E. coli* (Sidi Mohammed et al., 2018).



**Figure 25** : Distribution des diamètres des zones d'inhibition d'*E. coli* en fonction d'HE, des extraits de *Mentha spicata* L, des antibiotiques et de DMSO.

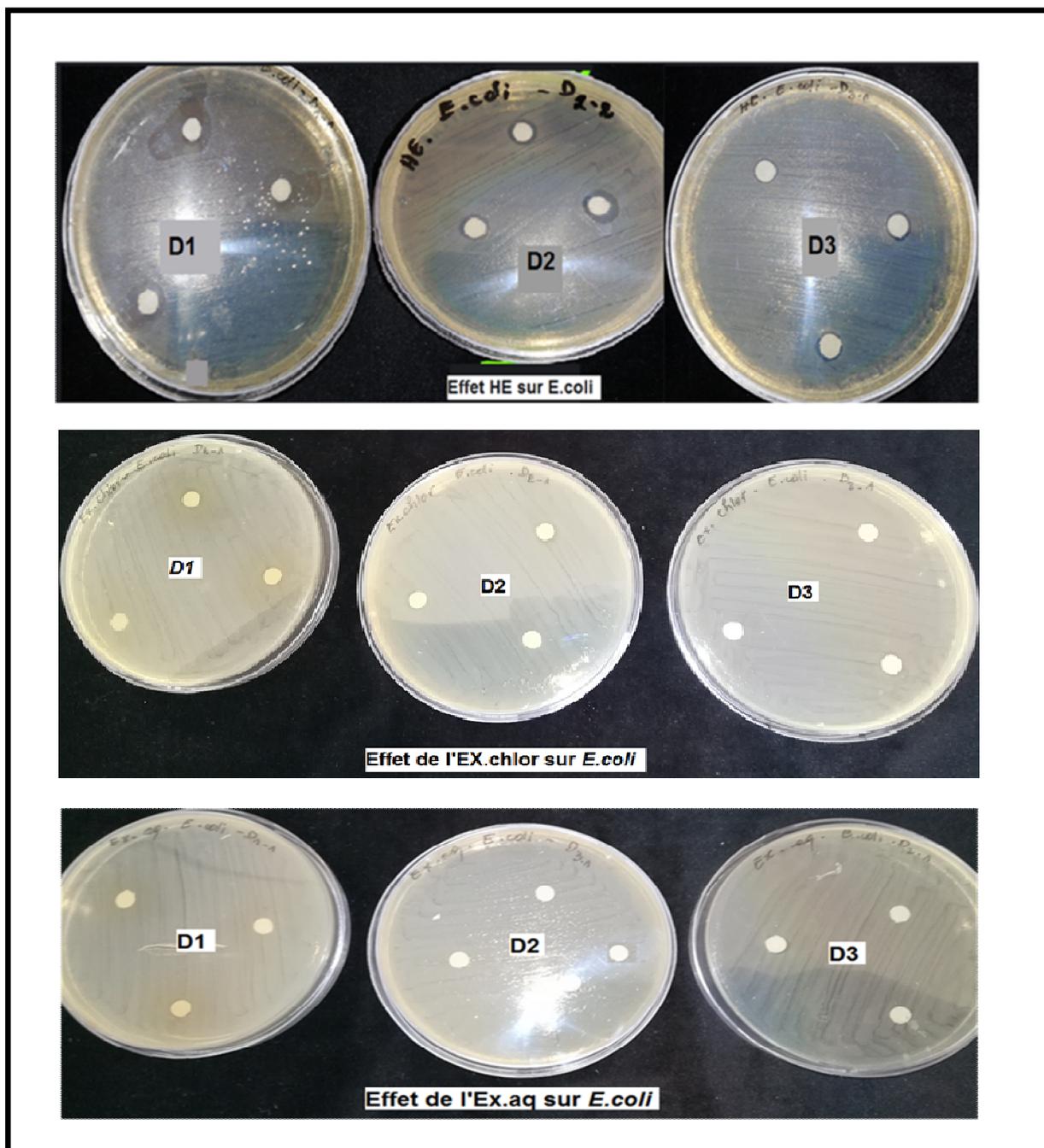
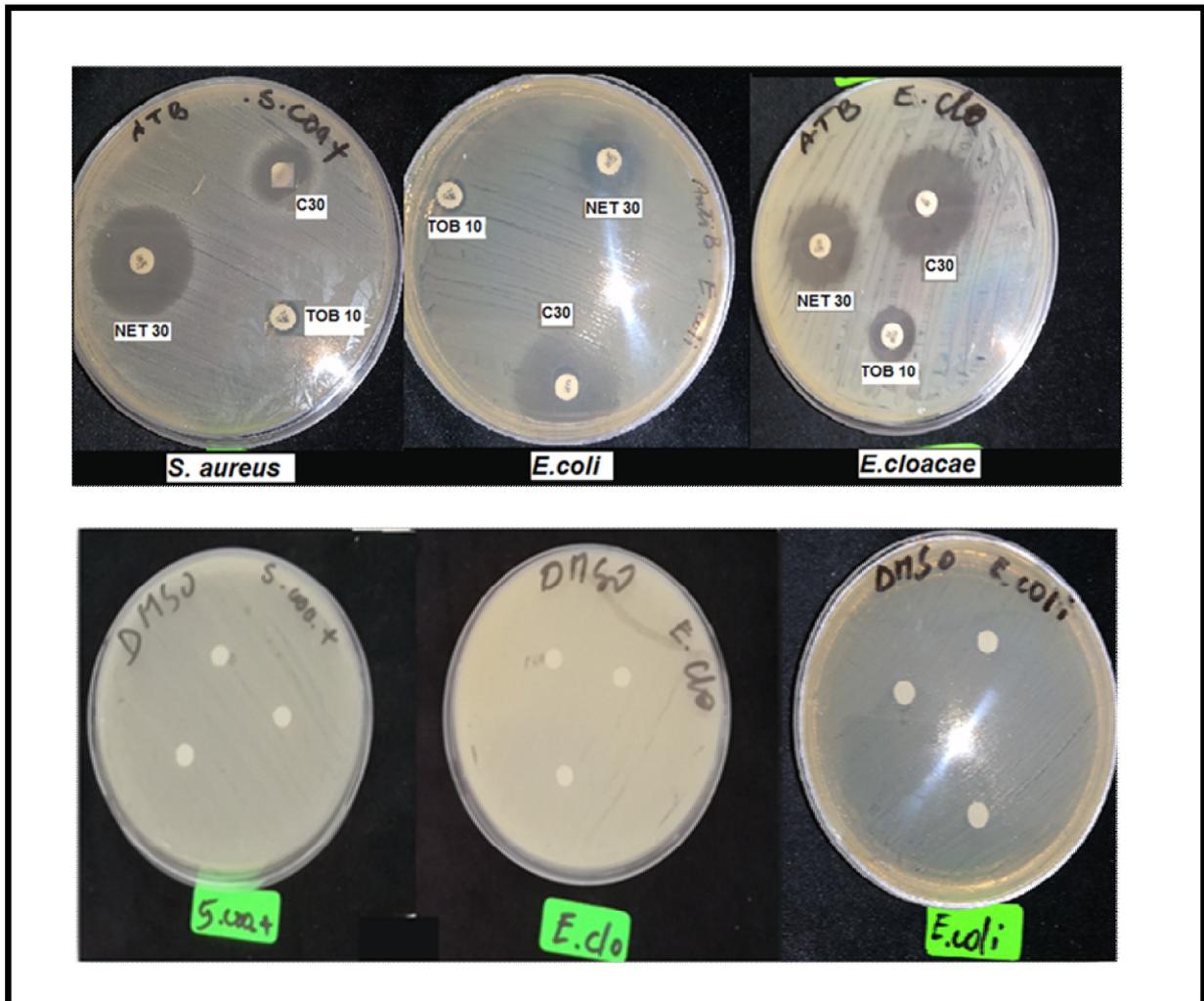


Figure 26: Action d'HE et des extraits de *Mentha spicata* L. sur *E. coli*.

L'évaluation des pouvoirs antibactériens du témoin positif (trois antibiotiques commercialisés) et du témoin négatif (DMSO) est résumée dans la figure ci-dessous.



**Figure 27** : Action des antibiotiques et du DMSO sur les souches bactériennes (TOB: Tobramycine, NET : Nétilmicine, C: Chloramphénicol).

L'ordre de la sensibilité à l'effet antibactérien de *Mentha spicata* est le suivant : *Staphylococcus aureus* > *Enterobacter cloacae* > *Escherichia coli*, ces résultats sont en accord avec l'étude de Seyedeh et al., ( 2010).

**Tableau 9:** Lecture de l'activité antibactérienne de *Mentha spicata* L.( huile essentielle, extraits) et les antibiotiques et DMSO.

Les souches	Témoin (DMSO)	Les antibiotiques			Les dilutions de l'HE			Les dilutions de l'extrait aqueux			Les dilutions de l'extrait chloroformique		
		C 30	NET 30	TOB 10	D1	D2	D3	D1	D2	D3	D1	D2	D3
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	+	+++	-	+++	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	+++	+++	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	0	+++	+++	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

A plus grande échelle, la bactérie *S. aureus* (Gram-positif) est plus sensible à l'huile essentielle que les bactéries Gram-négatif (*E. coli* et *E. cloacae*), ce qui est dû à la paroi cellulaire plus complexe de ces dernières (Boukhebt 2011). L'ensemble des études montre que les menthes possèdent un réel potentiel antibactérien dû à la richesse en Carvone (acétone). De fortes concentrations de ce dernier peuvent être utilisées pour expliquer l'usage traditionnel d'huiles essentielles de *M. spicata* dans le traitement de maladies bactériennes. L'augmentation des résistances aux antibiotiques et des maladies infectieuses, associées aux effets indésirables des antibiotiques place l'huile essentielle comme une bonne alternative au traitement allopathique. Cependant, de nouvelles études sont à mener pour mieux comprendre les bases scientifiques de la phytothérapie appliquée (Boukhebt 2011).

*Conclusion*

## Conclusion

Les plantes médicinales ont été employées en tant que traitements traditionnels pour de nombreuses maladies humaines depuis des milliers d'années. D'autre part, le recours au traitement par les plantes ainsi que la recherche des nouvelles substances à activités biologiques constituent une des grandes préoccupations scientifiques. *Mentha spicata L* est une plante qui a été largement étudiée pour ses propriétés médicinales grâce à sa richesse en composés phénoliques et en huiles essentielles.

Dans la présente recherche, nous sommes intéressées à étudier le pouvoir antibactérien des différents extraits de *Mentha spicata L*. Le choix de cette plante est basé sur quelques données ethno-pharmacologiques (troubles intestinaux, ulcère, infections microbiennes.etc) Notre étude a abouti aux résultats suivants :

- \* L'extraction des huiles essentielles, par hydrodistillation à l'aide d'un montage à partir des parties aériennes de l'espèce choisie a permis d'obtenir un rendement acceptable et satisfaisant.
- \* Le test de l'activité antibactérienne montre que :
  - L'huile essentielle à l'état pure de *Mentha spicata L* possède un effet antibactérien majeur vis-à-vis de la souche *S. aureus* comparable à celui du NET 30, mais cette action est faible vis-à-vis des autres souches : *E. cloacae* et *E. coli*.
  - Le C 30 a une faible action antibactérienne sur *S. aureus* par contre elle est résistante contre le TOB 10.
  - L'activité antibactérienne de l'huile pure est puissante comparativement au TOB 10.
  - Les dilutions d'huile dans le DMSO diminuent son pouvoir antibactérien.
  - Les autres extraits de *Mentha spicata L* n'ont aucun effet antibactérien notable sauf l'extrait aqueux pur qui a une faible activité antibactérienne vis-à-vis d'*E. cloacae*.
  - Le NET 30 a le pouvoir antibactérien le plus puissant tandis que le TOB 10 a le pouvoir le plus faible.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus *in vitro* ne constitue qu'une première étape dans la recherche de substances de source naturelle biologiquement active. Des tests complémentaires plus approfondis concernant l'activité antibactérienne *in vivo*, et des études chimiques et microbiologiques seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence.

*Références  
bibliographiques*

- Abrassart JL, (1997). Aromathérapie essentielle : huiles essentielles ; parfums pour le corps et l'âme. Editions Guy trédaniel, 271p.
- Abootalebian, M., Keramat, J., Kadivar, M., Ahmadi, F. and Abdinian, M. (2016). Comparison of total phenolic and antioxidant activity of different *Mentha spicata* and *M. longifolia* accessions. *Annals of Agricultural Science*, 61: 175-179.
- Adli Ben ziane et Yousfi Ismail, (2001).  
<https://sites.google.com/site/pastoraldz/plantes-medicinales/plantes-medicinales/plantes-medicinales-en-algerie>.
- AFNOR, (1986). Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». Paris. 57 p.
- Alaee, S., Rezaee, S. and Ziaei, G. (2005). Evaluation of the Effects of *Mentha Spicata* Extract on In-Vitro Maturation of Mouse Oocytes. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies*, 2(2) : 200-203.
- Alessandra Moro Buronzo (2008). Grande guide des huiles essentielles santé beauté Marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires.
- Allali H, Chikhi I, Dib M E, Muselli A, Fekih N, Meliani N, Kamal M A, Tabti B and Costa J.(2013). Antioxidant activity and chemical analysis of *Mentha spicata* cultivated from west northern region of Algeria by headspace solid phase micro-extraction and hydro-distillation. *Nat Prod I J*. 9(6) : 258–263. 2.
- Almeida, P.P., Mezzomo, N. and Ferreira, R.S. (2012). Extraction of *Mentha spicata* L. Volatile Compounds: Evaluation of Process Parameters and Extract Composition. *Food Bioprocess Technol*, 5: 548–559.
- Alvarez, J.A, Fernández-López, J. (2012). Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain. *Food Control* 27, 294-299.
- Amlan K., Patra J.S., (2010). A new perspective on the use of plant secondary metabolites to inhibit methanogenesis in the rumen. *Phytochemistry*. 71: [1198–1222.].
- Ann Arbor, (1990) Handbook of Chemistry and Physics, 71e éd., CRC Press, Michigan.
- Anonyme1. (Accéder 19/09/2019). Disponible sur : [https://fr.wikipedia.org/wiki/El\\_Idrissia](https://fr.wikipedia.org/wiki/El_Idrissia).
- Aumont Fresnet S(1993). La Menthe verte (*Mentha viridis* L.). Thèse Doct. Pharm. Univ. Paris XI, Chatenay, 208p.

- Bagheri, S., Ebrahimi, M. A., Davazdahemami, S. and Moghadam, J. M. (2014). Terpenoids and Phenolic Compounds Production of Mint Genotypes in Response to Mycorrhizal Bio-Elicitors. *Technical Journal of Engineering and Applied L.* 339-348.
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., (2008). Biological effects of essential oils. *Food Chemical Toxicology.* 46: 446–475.
- Barchan, A., Bakkali, M., Arakrak, A. and Laglaoui, A. (2015). Effet antibactérien et anti-biofilm de trois espèces de *Mentha* : *Mentha spicata*, *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. Lavoisier SAS. 1-9.
- Bardeau F. (2009) - les huiles essentielles: découvrir les bienfaits et les vertus. Ed. Lanore, Paris, 32-198-201 P.
- Baser Khc., Buchbauer G., (2010). *Handbook of Essential oils: Science, Technology and Applications.* CRC Press. UK.
- Benghanou M., (2012). La phytothérapie entre la confiance et mefiance. Mémoire professionnel infirmier de la sante publique, institut de formation paramédical Chettia (Alger) 56.
- Ben Mansour, M., Balti, R., Rabaoui, L., Bougatef, A., Guerfel, M. (2013). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from south Tunisian *Ajuga pseudoiva* Rob. Lamiaceae. *Process Biochemistry* 48, 723-729.
- Boukhebt H, Chaker A N, Belhadj H, Sahli F, Ramdhani M, Laouer H and Harzallah D.(2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Mentha pulegium* L. and *Mentha spicata* L. essential oils. *Der Pharmacia Lettre.* 3 (4) : 267-275. 3.
- Bourgeois Laurent(2009). *Remèdes et recettes de grand-mère*, Rustica ed., Paris.
- Brahmi, F. (2016). Etude phytochimique et activités biologiques de quelque espèces du genre *mentha* : cas de *M.spicata* L., *M.pulegium* L. et *M.rotundifolia* L. huds. Thèse doctorat, Université Abderrahmane Mira Bejaia, p31-32.
- Brahmi F, Adjaoud A, Marongiu B, Falconieri D, Yalaoui-Guellal D, Madani K and Chibane M. (2016). Chemical and biological profiles of essential oils from *Mentha spicata* L. leaf from Bejaia in Algeria. *Journal of Essential Oil Research.* 28 (3): 211–220.
- Brahmi, F., Adjaoud, A., Marongiu, B., Procedda, S., Piras, A., Falconieri, D., Yalaoui-Guellal, D., Elsebai, M. F., Madani, K. and Chiban, 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. *Industrial Crops and Products.*10.

- Brahmi, F., Hauchard, D., Guendouze, N., Madani, K., Kiendrebeogo, M., Kamagaju, L., Stévigny, C., Chibane, M. and 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., Madani, K., Dahmoune, F., Rahmani, T., Bousbaa, K., Oukmanou, S., Chibane, M. (2012). Optimisation of Solvent Extraction of Antioxidants (Phenolic Compounds) From Algerian Mint (*Mentha spicata* L.). *Pharmacognosy Communications*, 2: 72-86.
- Bremns, L. (2011). *Plantes aromatiques et médicinales 700 espèce*. A Dorling Kindersley Book. Paris : Larousse, 190 p.
- Bruneton J (2009). *Pharmacognosie : Phytochimie, plantes médicinales*, 4ème édition de médicales internationales (Tec et Doc), Paris: 1288.
- Bruneton J., (1993). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. Tec & Doc, Lavoisier, Paris. P: 915.
- Bruneton J., (2008). *Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales*. 2ème Edition, Tec & Doc, Lavoisier, Paris. P: 1188.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223-253.
- Calsamiglia S., Busquet M., Cardozo P.W., Castillejos L., Ferret A., (2007). Invited review: Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation. *Journal of Dairy Science*. 90: 2580–2595).
- Cardile, V., Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Arnold, N.A., Piozzi, F. (2009). Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: Chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology* 126, 265-272.
- Carré, P. (1953). *Précis de technologie et de chimie industrielle*. Tome 3. Ed. Ballière J.B. et fils. France. Paris. In: Bekhchi, C 2002. *Analyse d'huile essentielle d'Ammoïdes verticillata (Nunkha) de la région de Tlemcen et étude de son pouvoir antimicrobien*. Mem.Mag.Univ.Tlemcen.
- Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 213-220.

- Combrinck S., Du Plooy G.W., Mccrindle R.I., Botha B.M., (2007). Morphology and Histochemistry of the Glandular Trichomes of *Lippia scaberrima* (Verbenaceae). *Annals of botany*. 99 (6) : 1111–1119.
- Couic-Marinier F., Lobstein (2013). Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. *Actualités pharmaceutiques*; 52 (525) : 18-21.
- Croteau R., Kutshan T.M., Lewis N.G., (2000). Natural products (secondary metabolites). In: Buchana, B., Gruissem, W., Jones, R. (eds), *biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of plant Physiologists, 1408 : 1250-1268.
- D.Baudoux et A.Zhiri (2006). *Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française*. Vol.2 Dermatologie. Ed. Inspir
- Derwich, E., Benziane, Z., Chabir, R., Taouil, R. (2011). In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 3, 89-95.
- Dunstan H., Florentine S. K., Calvino-Cancela M., Westbrooke M.E., Palmer G. C., (2013) Dietary characteristics of Emus (*Dromaius novaehollandiae*) in semi-arid New South Wales, Australia, and dispersal and germination of ingested seeds. *Csiro Publishing*, 113: 168-176.
- Elfadl Abdellatif, Skiredj Ahmed (2002). *Bulletin mensuel d'information et de liaison de la PNTTA n° 97 : Transfert de technologie en agriculture*.
- Essawi, T., Srour, M. (2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 343-349.
- FAO.2010. *Etude de base sur la culture de la Menthe au maroc*.
- Fournier Paul-Victor(2010). *Dictionnaire des plantes médicinales et vénéneuses de France*, Omnibus, Paris .
- Franchomme, P., Jollois, R., Penoel, D, (2001) *L'aromathérapie exactement : Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles* Editions Jollois.
- Franchomme P., Pénéol D, Jollois R (1990). *L'aromathérapie exactement- Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles*. Fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. Editions Jollois, 445p.
- Gazengel J-M., Orecchioni A-M, (2013) *Le préparateur en pharmacie*. 2<sup>ème</sup> édition. Ed. Lavoisier, Paris.

- Guenther, E. (1984). The essential oil. Oil of peppermint, vol III, Robert E. Krieger Publishing Co.Int. New York.
- Guiraud, (1998). Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod.
- Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université Corse-Pasquale Paoli. 143 P.
- Hajighasemi, F., Hashemi, V. and Khoshzaban., F. (2011). Cytotoxic effect of *Menthaspicata* aqueous extract on cancerous cell lines in vitro. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(20) : 5142-5147.
- Harborne J. B., Williams C. A., (2000). Advances in flavonoids research since 1992. *Phytochemistry*, 55: 481–504.
- Hernandez-Ochoa, L.R. (2005). Substitution de solvants et matières actives de synthèse par combine “ solvant/actif ” d'origine végétale. Thèse de doctorat de l'Institut Nationale Polytechniques de Toulouse. France.
- Hart K.J. Yáñez-Ruiz D.R., Duval S.M., McEwan N.R. Newbold C.J. (2008). Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal Feed Science and Technology*. 147: 8–35.
- Hayes, J. R., Stavanja, M. S. and Lawrence, B. M., 2006. *Mentha*: Biological and toxicological properties of mint oils and their major isolates: safety assessment. In B. M.
- Hazzit, M., Baaliouamer, A., Veríssimo, A.R., Faleiro, M.L., Miguel, M.G. (2009). Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry* 116, 714-721.
- Heller W., Forkmann G, (1993). Biosynthesis of flavonoids. Chapman and Hall,London: 499-535.
- Hermans, N., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 213-220.
- Himed L. et Barkat M (2014). Élaboration d'une nouvelle margarine additionnée des huiles essentielles de Citrus limon. *Oilseeds Fats Crops and Lipids (OCL)*. A102.
- Himed, (2011). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine. Mémoire de Magister. Université Mentouri Constantine, Algérie. 91p.
- Hmamouchi M (1999). Les plantes médicinales et aromatiques marocaines. Editions Fedala, Mohammedia.

- Hopkins W. G. (2003). Physiologie végétale. 2ème édition américaine, de Boeck et Lancier S A, Paris: 514.
- Hurtel JM., (2006). Huiles essentielles et Médecine. Aromathérapie et santé. Consulter sur : [www.phytomania.com](http://www.phytomania.com).
- Hussain A I, Anwar F and Shahid M. (2010). Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *Journal of Essential Oil Research*. 22 (1): 78-84.
- Hussain AI, Anwar F, Nigam PS, Ashraf M, Gilani AH.(2010) Seasonal variation in content, chemical composition and antimicrobial and cytotoxic activities of essential oils from four *Mentha* species, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, p1827-1836 .
- Ilbert, H., Hoxha, V., Sahi, L., Courivaud, A., & Chailan, C. (2016). Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. (FranceAgirMer, Ed.).
- Iserin P., Maasson M., Restellini J. P., Ybert E., De Lagge De Meux A. Moulard F., Zha E., De La Roque R., De La Roque O., Vican P. Deelesalle -Feat T., Biaujeaud M., Ringuet J., Bloth J., Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. 2ème édition de VUEF, Hong Kong: 335.
- Kalemba, D., Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr. Med. Chem* 10, 813-829.
- Kanatt, S. R., Chander, R. and Sharma, A., 2008. Chitosan and mint mixture: A new preservative for meat and meat products. *FoodChem.*, 107(2): 845-852.
- Karray-Bouraoui N., Rabhi M., Neffati M., Baldan B., Ranieri A., Marzouk B. et al., (2009). Salt effect on yield and composition of shoot essential oil and trichome morphology and density on leaves of *Mentha pulegium*. *Industrial Crops and Products*. 30 :( 338–343. ).
- Laggoune, S., Öztürk, M., Erol, E., Duru, M. E., Abaza, I., Kabouche, A. and Kabouche, Z. (2016). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oil of *Mentha spicata* L. from Algeria. *Journal of Materials and Environmental Science*, 7 (11): 4205-4213.
- Lahrach, N.E. (2005). Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Mentha pulegium* L. et son constituants majoritaire : Pulégone. P 16,17.
- Landsdown, R.V. (2014). *Mentha spicata*. The IUCN Red List of Threatened species. "www.iucnredlist.org".

- Lardry J-M, Haberkorn V (2007). L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev*; 61: 14-7.
- Larousse médicale (2001). 3<sup>ème</sup> Ed Larousse, Boulogne.
- Leila .L (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*.
- Ling W. H., Jones P. J. H. (1995). Dietary phytosterols of metabolism benefits and side effects. *Review life science*, 57: 195-206.
- Longaray Delamare, A.P., Moschen-Pistorello, I.T., Artico, L., Atti-Serafini, L., Echeverrigaray, S. (2007). Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chemistry* 100, 603-608.
- Lorrain E (2013). 100 questions sur la phytothérapie. Ed. La boétie, Italie.
- Maftai, M., 1992. Dry culinary herbs: an overview of selected Western European Markets. In N. Verlet (Ed.) *Compte Rendu des 3<sup>èmes</sup> Rencontres Techniques et Economiques Plantes Aromatiques et Médicinales* (pp. 249-292). Nyons: C.F.P.P.A
- Marianne Piochon (Aout 2008). Étude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne, p 19-20.
- Mokkadem A., (1999) – Cause de Dégradation des plantes médicinales et aromatiques d'Algérie. in *Revue Vie et Nature* n° 7 1999. pp.24 – 26.
- Moon, H.K., Hong, S.P., Smets, E. and Huysmans, S. (2009). Micromorphology and character Evolution of Nutlets in Tribe Menthae (Nepetoideae, Lamiaceae). *Systematic Botany*, 34(4): 760-776.
- Najeeb, A. P., Mandal, P. K. and Pal, U. K., 2015. Efficacy of leaves (drumstick, Mint and curry leaves) powder as natural preservatives in restructured chicken block. *J. Food Sci. Technol.*, 52(5): 3129-3133.
- Nanekarani, S., Goodarzi, M. and Heidari, M. (2012). The Effect of Different Levels of Spearmint (*Mentha Spicata*) Extract on Immune System and Blood Parameters of Broiler Chickens. *APCBEE Procedia*, 4: 135 – 139.
- Nicolas Jean-Baptiste G. Guibourt, (1826). *Histoire abrégée des drogues simples*, page 41.
- Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I.C.F.R., Calhella, R.C., Fernandes, Â., Marković, T., Marković, D., Giweli, A., Soković, M. (2014). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss. and *Reut* and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Industrial Crops and Products* 52, 183- 190.

- Nogaret-Ehrhart A-S (2008). La phytothérapie : se soigner par les plantes. Ed. Eyrolles, Paris.
- Osborn A. E., Lanzotti V. (2009). Plant-derived Natural Products synthesis, function and application. Édition Springer, New York : 11-35.
- Paris, Tome I (1964). Botanique dans l'antiquité, Boulevard Saunt-Germain ; Paris VIe, Edition.
- Paris RR, (1971). Moysse H Précis de matière médicale. Tome 3, Masson, Paris.
- PELT J. (1980). Les drogues, leur histoire et leurs effets. Édition Doin, Paris: 221.
- Pourmortazavi SM., Hajimirsadeghi SS., (2007). Supercritical fluid extraction in plant essential and volatile oil analysis. J. Chromatogr. A. 1163: 2-24.
- Roulier G (1990). Les huiles essentielles pour votre santé : traité pratique d'aromathérapie. Propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Editions Dangles,.
- Rubiolo P., Sgorbini B., Liberto E., Cordero C., Bicchi. (2010). Essential oils and volatiles: sample preparation and analysis. Flavour Fragr. J. 25, 282-290.
- Sarni-Manchado P. Veronique C. (2006). Les polyphénols en agroalimentaires. Collection sciences et techniques agroalimentaires, édition TEC et DOC, Paris (France): 398.
- Senoussi, M., Noumi, E., Trabelsi, N., Flamini, G., Papetti, A. and Vincenzo Defeo. (2015). Mentha spicata essential oil: chemical composition, antioxidant and antibacterial activities. A gainst planktonic and biofilm cultures of vibrio spp strains. Molécules, 20: 14402-14424.
- Seyedeh Maryam Sharafi , Iraj Rasooli , Parviz Owlia , Mohammadreza Jalali Nadoushan , Tooba Ghazanfari & Massoud Taghizadeh (2010). Phytochemical Bioactives from Mentha spicata Essential Oil for Health Promotion, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 13:2, 237-249.
- Sidi Mohammed Ammar Selles, Mokhtaria Kouidri, Yuva Bellik, Amar Ait Amrane, Belkacem Tahar Belhamiti, Ahmed Redha Benia, Si Mohamed Hammoudi and Laid Boukraa (2018). Chemical Composition, Antioxidant and In vitro Antibacterial Activities of Essential Oils of Mentha spicata Leaf from Tiaret Area (Algeria). Journal of Pharmaceutical Sciences, 95.
- Sommerard Jean-Charles, (2012). Les eaux florales, Presses du Chatelet, Paris.
- Soysal, Y. (2005). Mathematical Modeling and Evaluation of Microwave drying Kinetics of mint (Mentha spicata L.). Journal of Applied Sciences, 5(7): 1266-1274.
- Staub Hervé, Bayer Lily, (2013). Traité approfondi de phyto-aromathérapie : avec présentation de 750 huiles essentielles connues, Ed Grancher, Paris.

- Sylvain S., (2010). - Étude de la composition chimique d'huiles essentielles et d'extraits de menthes de corse et de kumquats. Thèse de doctorat, université de Corse Pascal Paoli.
- Tenore, G.C., Ciampaglia, R., Apostolides Arnold, N., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D., Senatore, F. (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology* 49, 238-243.
- Teuscher Eberhard, Anton Robert, (2015). Lobstein Annelise *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*, Ed Tec & Doc, Paris.
- Upson T.M., Grayer R.J., Greenham J.R., Williams C.A., Al-Ghamdi F. and Chen F.H. (2000). Leaf flavonoids as systematic characters in the genera *Lavandula* and *Sabaudia*. *Journal of Biochemical Systematic and Ecology*, 17: 991–1007.
- WHO (2002) Fact Sheet No. 271. World Health Organisation, Geneva.
- Wichtl M., Anton R., (2009). *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Édition Lavoisier, Paris : 38, 41.
- Zaouali, Y., Bouzaine, T., Boussaid, M. (2010). Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food and Chemical Toxicology* 48, 3144-3152.
- Zekri, N., Elazzouzi, H., Drioche, A., Satrallah, A., Belghiti, M. A. and Zair, T. (2016). Effect of Geographic Locations on Chemical Composition of *M. Spicata* L. Essential oils from Moroccan Middle-Atlas. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (4):146-150.
- Zouari, N., Fakhfakh, N., Zouari, S., Bougatef, A., Karray, A., Neffati, M., Ayadi, M.A. (2011). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of Tunisian *Thymus algeriensis* Boiss. et Reut. (Lamiaceae). *Food and Bioprocess Technology* 89, 257-265.

*Annex*

## La composition des milieux

### 1-Gélose nutritive en g/l d'eau distillée

Peptone de gélatine..... 5,0  
extrait de viande (bête animale) .....3,0  
agar .....15,0  
pH = 6,8+ou-0,2

### 2-Mueller Hinton en g/l

Beef, infusion from.....300,00  
caseine acide hydrolysate .....17,50  
Starch .....1,50  
agar .....17,00  
pH (25c) = 7,3+ou-0,1



Milieux GN et MH.

## Résumé

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle ainsi que quelques extraits d'une espèce de menthe : *Mentha spicata L.* qui est une des plantes utilisées en médecine traditionnelle algérienne, et connue sous le nom de Naànaa.

L'huile essentielle est obtenue par hydrodistillation, alors que les extraits sont obtenus par macération dans l'eau ou dans le méthanol puis une deuxième extraction par différents solvants. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction était de l'ordre de 2.26%, 20.01 et 16.6% HE, extrait aqueux et chloroformique respectivement.

En outre, les tests de l'activité antibactérienne de l'espèce étudiée donne l'ordre suivant de sensibilité vis-à-vis les souches étudiées : *Staphylococcus aureus* > *Enterobacter cloacae* > *Escherichia coli*.

**Mots clés :** Huile essentielle, Extrait, *Mentha spicata L.*, Activité antibactérienne, Menthe verte.

## Abstract

The objective of this study is to evaluate the antibacterial activity of the essential oil as well as some extracts of a species of mint: *Mentha spicata L.*, which is one of the plants used in Algerian traditional medicine, and known under the name of *Naànaa*.

The essential oil is obtained by hydrodistillation, while the extracts are obtained by maceration in water or in methanol and a second extraction with different solvents. The obtained results showed that the extraction yield was 2.26%, 20.01 and 16.6% EO, water and chloroform extracts respectively.

In addition, the tests of the antibacterial activity of the studied species give the following order of sensitivity with respect to the strains studied: *Staphylococcus aureus* > *Enterobacter cloacae* > *Escherichia coli*.

**Key words:** Essential oil, Extract, *Mentha spicata L.*, Antibacterial activity, Spearmint.

## المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا في الزيوت الأساسية بالإضافة إلى بعض المستخلصات المستخرجة من *Mentha spicata L.*، وهي واحدة من النباتات المستخدمة في الطب الجزائري التقليدي، والمعروفة باسم النعناع الأخضر.

تم الحصول على الزيوت الأساسية عن طريق التقطير البخار، في حين تم الحصول على المستخلصات عن طريق النقع في الماء أو في الميثانول ثم الإستخراج باستخدام مذيبات مختلفة.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن مردودية الاستخلاص قدرت بـ 2,26% و 20,01% و 16,6% ؛ لكل من الزيوت الأساسية، مستخلص الماء و الكلوروفورم على التوالي.

بالإضافة إلى ذلك، أعطت نتائج إختبارات النشاط المضاد للبكتيريا للأنواع المدروسة الترتيب التالي حسب درجة الحساسية :

*Escherichia coli* < *Enterobacter cloacae* < *Staphylococcus aureus*

**الكلمات المفتاحية:** زيت أساسي، مستخلص، نشاط مضاد للبكتيريا، النعناع الأخضر.