

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد - الطارف

Université Chadli Bendjedid – El Tarf

كلية العلوم والتكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم الكيمياء

Département de Chimie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Spécialité. Chimie Analytique

Thème

**Caractérisation phytochimique d'extrait des feuilles d'une
plante pour l'emploi comme agents de conservation des
produits alimentaires**

Présenté par :

BOUGHEZALA Khalifa

Devant le Jury :

Dr. ZERNIZ Nawel	MCA	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Présidente
Dr. BOUGHRARA Boudjema	MCA	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Encadreur
Dr. MOKRANI Karima	MCA	Univ Chadli Bendjedid El Tarf	Examinatrice

Année Universitaire 2024-2025



أولاً أنحني خاضعاً وشاكراً لله العليّ القدير الرحيم المعين الذي أمدني بالقوة والشجاعة للقيام بهذا العمل المتواضع، فهو عليه توكلت وبفضله وعونه وفقت وبنوره هديت.

وأتقدم بالشكر الوافر والامتنان غير المنقطع للأستاذ الفاضل الدكتور: **بوغرارة بوجمعة** الذي تشرفت بإنجاز هذا العمل تحت إشرافه فكان النبراس الذي أضاء لي طريقي بتوجيهاته ونصائحه وتضحياته وتصحيحاته من أجل تقديم الأفضل والمتابعة خلال فترة إعداد أطروحتي وإخراجها في أجمل وأحسن حلة علمية لتكون إضافة للمكتبة الجامعية.

كما أشكر السيد **مختار ثمرأوي** (مهندس بمخبر الميكروبيولوجيا العيادة المتعددة الخدمات مرزوق إبراهيم -الطارف) على دعمه المتواصل، وروح الدعاية الدائمة لديه، وكذلك على توجيهاته وحضوره أثناء إعداد هذه الرسالة.

والشكر موصول للأستاذة الدكتورة: **زرنيز نوال** على قبولها رئاسة لجنة المناقشة والتحكيم، كما أشكر الأستاذة الدكتورة: **مقراني جلول كريمة** على قبولها كذلك على إثراء ومناقشة هذا العمل.

ونود في الأخير أن أتقدم بالشكر والتقدير لجميع الأساتذة الدكاترة وغيرهم الذين بفضل توجيهاتهم وجهودهم على مدى السنوات القليلة الماضية، فقدموا لنا الكثير من العلم والمعرفة بطريقة ميزتها جودة التدريس وتفان في العمل والأداء.

الإهداء

- إلى روح والديا الكريمين على ما قدماه لي حتى يصنعا مني الرجل الذي أرادا.
- إلى زوجتي وأبنائي الذين قدموا لي يد العون من يوم بداية إكمال دراستي إلى آخر يوم منها.
- إلى عمتي أطال الله في عمرها التي كانت لي كأم وروح زوجها الذي كان لي كأب والأستاذ.
- إلى كل إخوتي وأصدقائي وأحبائي.

أهدي هذا العمل

Résumé

L'étude s'insère dans le cadre général de l'incidence des produits chimiques de synthèse dans la conservation des aliments et leur impact sur la santé humaine. Face à ce fléau, la recherche s'est axée sur la substitution de ces produits par des substances bioactives isolées à partir de plantes ou de microorganismes. Ce travail porte sur la valorisation des feuilles de La menthe poivrée (la famille de lamiacées) collectées dans la région de l'Est Algérien (PNEK El-Tarf). Le rendement d'extraction des polyphénols par macération avec l'eau (100%), s'est avéré meilleur que celui avec le méthanol (30%) Par ailleurs, le rendement d'extraction des huiles essentielles par hydro distillation était moyen. L'analyse par spectrophotométrie de la fraction phytochimique a révélé que l'extrait riche en polyphénols : 1,541 mg EAG/100 g MS. L'étude de l'activité antibactérienne des extraits de la plante par la méthode de diffusion sur gélose Mueller- Hinton, sur des souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Escherichia coli*).

L'activité larvicide d'extraits d'espèce végétale permet d'une part de confirmer les pratiques traditionnelles des plantes comme un agent de conservation des produits alimentaires

Ces résultats, les feuilles de menthe poivrée pourraient être exploitées comme une source d'agents antioxydants (polyphénols) et antibactériens, larvicide naturels pour des applications alimentaires pharmaceutiques et cosmétiques.

Les mots clés : menthe poivrée, polyphenols, activité antibactérienne, larvicide

Abstract

The study is part of a general study of the impact of synthetic chemicals in food preservation and their impact on human health. Faced with this scourge, research has focused on replacing these products with bioactive substances isolated from plants or microorganisms. This study focuses on the valorization of catnip mint leaves (from the Lamiaceae family) collected in eastern Algeria (PNEK El-Tarf). The extraction yield of polyphenols by maceration with water (100%) was better than that with methanol (30%). The extraction yield of essential oils by hydro-distillation was average. Spectrophotometric analysis of the phytochemical fraction revealed that the extract was rich in polyphenols: 1.541 mg EAG/100 g MS. Study of the antibacterial activity of plant extracts using the Mueller-Hinton agar diffusion method, on bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*).

The larvicidal activity of extracts from both plant species confirms the traditional use of plants as a preservative for food products.

Based on these results, peppermint leaves could be exploited as a source of natural antioxidant (polyphenols), antibacterial and larvicidal agents for pharmaceutical and cosmetic food applications.

Key words: Catnip mint, polyphenols, antibacterial activity, larvicidal

الملخص

تعد هذه الدراسة جزءاً من الإطار العام لظاهرة استخدام المواد الكيميائية الصناعية في حفظ الأغذية وتأثيرها على صحة الإنسان. وفي مواجهة هاته المشكلة، ركز البحث على استبدال هذه المنتجات بمواد نشطة بيولوجياً معزولة من النباتات. ويركز هذا العمل على تثمين أوراق النعناع البري (من الفصيلة الشفويات) التي تم جمعها من المنطقة الشرقية الجزائرية (الحضيرة الوطنية القالة ولاية الطارف). وقد وجد ان عائد استخلاص البوليفينول عن طريق النقع بالماء (100%) أفضل من عائد استخلاصها باستخدام الميثانول (30%)، علاوة على ذلك كان عائد استخلاص الزيوت العطرية بالتقطير المائي متوسطاً. وكشف التحليل الطيفي الضوئي للجزء الكيميائي النباتي أن المستخلص غني بالبوليفينول: 1.541 ملغم م ح / 1 غ غرام من المادة الجافة النباتية. درست النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية باستخدام طريقة انتشار أجار مولر-هنتون أجار على السلالات البكتيرية (المكورات العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية والإشريكية القولونية). يؤكد النشاط المضاد لليرقات لمستخلص المدروس وبالممارسات التقليدية المتعلقة باستخدام النباتات كمادة حافظة للمنتجات الغذائية.

تشير هذه النتائج الى إمكانية استخدام أوراق النعناع كمصدر لمضادات الأكسدة الطبيعية (البوليفينول)، والعوامل المضادات للبكتيريا بالإضافة الي كونها مبيدات طبيعية لليرقات وفي التطبيقات الغذائية والدوائية ومستحضرات التجميل.

الكلمات الرئيسية: النعناع البري، البوليفينول، النشاط المضاد للبكتيريا، مبيد اليرقات

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	III
INTRODUCTION.....	01
PARTIE 1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES.....	04
I. LA PLANTE ETUDIÉE : MENTHE POIVRÉE.....	04
I.1. Nomenclature et classification systématique.....	04
I.2. Description botanique.....	04
I.3. Distribution géographique.....	05
I.4. Utilisation médicinale.....	06
II. LES ANTIOXYDANTS.....	07
II.1. Généralités.....	07
II.2. Les types d'antioxydants.....	07
II.2.1. Les antioxydants enzymatiques.....	07
II.2.1.1. La super oxyde dismutase (SOD).....	07
II.2.1.2. La catalase.....	07
II.2.1.3. La glutathion peroxydase (GPX).....	07
II.2.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	07
II.2.2.1. L'acide ascorbique.....	07
II.2.2.2. La vitamine E.....	08
II.2.2.3. Le β carotène.....	08
II.2.2.4. Le sélénium.....	08
III. LES POLYPHENOLS.....	08
III.1. Généralités.....	08
III.2. Classification des phénols.....	09
III.2.1. Les acides phénoliques.....	10
III.2.2. Les flavonoïdes.....	10
III.2.3. Les lignanes.....	11
III.2.4. Les stilbènes.....	11
III.2.5. Les tanins.....	12
III.3. Propriétés biologiques des polyphénols.....	12
IV. LES HUILES ESSENTIELLES.....	13
IV.1. Généralités.....	13
IV.2. Composition des huiles essentielles.....	13
IV.2.1. Terpènes et terpénoïdes.....	14
IV.2.2. Composés aromatiques.....	15
IV.2.3. Composés d'origine divers.....	15
IV.3. Propriétés biologiques des terpènes.....	15
V. LES SOUCHES BACTÉRIENNES TESTÉES.....	16
V.1. Staphylococcus aureus.....	16
V.1.1. Définition.....	16

V.1.2. Classification.....	16
V.2. Escherichia coli.....	16
V.2.1. Définition.....	16
V.2.2. Classification.....	16
V.3. Pseudomonas aeruginosa.....	17
V.3.1. Définition.....	17
V.3.2. Classification.....	17

PARTIE 2 : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE II MATERIEL ET METHODES.....	18
I. MATERIEL VEGETAL.....	19
II. PREPARATION DES EXTRAITS BRUTS DE LA PLANTE.....	19
III. ANALYSE DES COMPOSES PHYTOCHIMIQUES.....	20
III.1. SCREENING PHYTOCHIMIQUES.....	20
III.1.1. les alcaloïdes.....	20
III.1.2. les flavonoïdes.....	20
III.1.3. Les tannins.....	20
III.1.4. les huiles essentielles.....	20
IV. Dosage des polyphénols totaux.....	20
V. EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES FOLIAIRES.....	21
V.1. Détermination du rendement.....	21
VI. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE.....	22
VI.1. Matériel.....	22
VI.1.1. Souches bactériennes.....	22
VI.1.2. Milieux de culture.....	23
VI.2. Méthodes.....	23
VI.2.1. Préparation des extraits.....	23
VI.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion sur milieu solide.....	23
VI.2.2.1. Test préliminaire.....	23
VI.2.2.2. Détermination de la quantité minimale inhibitrice (QMI).....	24
VII.1. L'activité Larvicide.....	24
VII.2. Détermination de l'effet larvicide des extraits de la plante.....	24

CHAPITRE III RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. RENDEMENTS D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS.....	26
II. RENDEMENTS D'EXTRACTION EN HUILES ESSENTIELLES.....	27
III. CARACTERISTIQUE PHYTOCHIMIQUE D'EXTRAIT.....	28
III.1. Screening phytochimiques.....	28
III.2. Teneur en phénols totaux.....	28
V. EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE.....	29
VI. EVALUATION DE L'ACTIVITE LARVICIDE.....	30
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	33
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	35

Liste des Abréviations

Abs : Absorbance

AlCl₃ : Chlorure d'aluminium

AFNOR : Association Française de Normalisation

C° : degré Celsius

EAG / gE: Equivalent d'acide gallique par gramme d'extrait

g : gramme

HE : huile essentielle

IC₅₀ : Concentration inhibitrice de 50%.

I% : Pourcentage d'inhibition

Mg : milligramme

NaOH : Hydroxyde de sodium

ROOH : Hydroperoxyde

µg : micro gramme

Liste des figures

<i>Figure</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Menthe Poivrée	05
02	Feuilles de Menthe (BOUGHEZALA 2025)	05
03	Distribution géographique de menthe (2013)	06
04	Structure chimique du phénol	09
05	Structure générale des flavonoïdes	11
06	Structure des stilbènes	11
07	Structure de quelques composés des huiles essentielles	14
08	Menthe poivrée de la région PNEK	19
09	Filtration et séchage de l'extrait	19
10	Extraction par hydro distillation	21
11	Méthode de dilution	24
12	Rendements des différents extraits des feuilles <i>menthe poivrée</i> .	26
13	Rendements en huiles essentielles des feuilles de menthe poivrée	27
14	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	29
15	Teneur en phénols totaux d'extrait des feuilles de menthe poivrée	29
16	Mortalité (%) des larves d' <i>myeloïs</i> en fonction de la concentration d'extrait (%) de la plante (<i>menthe poivrée</i>) après 24h de contact.	31

Liste des tableaux

<i>Tableau</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
01	Classification de menthe	04
02	Quelques classes des polyphénols	09
03	Tableau récapitulatif des rendements d'extraction	26
04	Tests phytochimiques	28
05	Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait aqueux des feuilles de menthe poivrée (PNEK)	30

Introduction

De nos jours, l'utilisation de certains antioxydants synthétiques a été suspendue en raison de leurs effets néfastes sur la santé humaine entre autres, l'effet cancérigène. De ce fait, les traitements à base de plantes et le retour à la médecine traditionnelle sont revenus au premier plan, d'autant plus que la phytothérapie propose des remèdes à base d'extraits naturels qui sont bien acceptés par l'organisme. La recherche s'est alors concentrée sur l'investigation de nouvelles sources d'antioxydants naturels extraits à partir de plantes ou de microorganismes. Les plantes médicinales représentent une source naturelle d'antioxydants grâce à leurs principaux métabolites secondaires, principalement les polyphénols et les huiles essentielles [01]. Ces derniers ont en fait leur implication dans le processus de défense de la plante, sont doués d'activités biologiques importantes et variées et incluent les effets antiallergique, antibactérien, anti carcinogène, anti-inflammatoire, anti thrombotique, antiviral, cardioprotecteur, hépatoprotecteur, vasodilatateur etc. [02]. En outre, de nombreuses substances bioactives purifiées à partir d'extraits phénoliques ou de composés volatils de plantes, sont employées comme ingrédients dans de nombreux secteurs, tels que le cosmétique, l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, l'agriculture, la pêche. La plupart de ces molécules bioactives ont été caractérisées comme étant d'excellents antioxydants qui interviennent dans le contrôle de deux types de réaction : le transfert d'atomes d'hydrogène et le transfert d'un électron unique [03].

La richesse de la flore algérienne en plantes médicinales et aromatiques est incontestable. Selon certains auteurs, on dénombre, dans la nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, 289 espèces assez rares, 647 rares, 640 très rares, 35 rarissimes et 168 endémiques [04]. La majorité d'entre elles poussent en milieux fragiles et demeurent très peu étudiées. Leur utilisation au niveau de n'importe quel secteur, sollicite l'intérêt récent des études pharmacologiques où de tests de toxicité.

Diverses propriétés médicinales ont été attribuées aux feuilles de menthe poivrée. Des études chimiques effectuées sur les feuilles de cette plante ont montré la présence d'huile essentielle, de flavonoïdes, de proanthocyanidines, de glucosides iridoïdes, de sucres, d'acides non volatils et phénoliques, de vitamines C et E et de caroténoïdes [05]. Les feuilles de *Mentha P* sont utilisées comme antiseptique urinaire, antidiabétique, antidiarrhéique, astringent, dépuratif, antioxydant, antihypertenseur, antithrombotique, anti-inflammatoire.

L'objectif principal de notre étude est d'évaluer les activités antibactérienne et larvicide de l'extrait phénolique et celui des composés volatils des feuilles de la menthe poivrée en vue de leur utilisation comme additifs dans la conservation des produits alimentaires. Pour se faire, nous avons tout d'abord testé l'existence des huiles essentielles au niveau des feuilles sèches.

Après avoir vérifié l'effet des solvants d'extraction sur la quantité de la fraction phénolique totale, cette dernière a été évaluée du point de vue activités antibactérienne et larvicide.

Partie 1
Synthèse bibliographique

I. LA PLANTE ETUDIEE : *Menthe poivrée*

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comporte environ 258 genres pour 6990 espèces plus ou moins cosmopolites ; mais dont la plupart se concentrent dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la menthe et le romarin. Les Lamiacées sont des herbacées, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses. Une grande partie de ces plantes sont aromatiques riches en huile essentielle d'où leur intérêt économique et médicinal. Un très grand nombre des genres de la famille des Lamiacées sont des sources riches en terpénoïdes, flavonoïdes et iridiodes, glycosylés et composés phénoliques [6].

I.1. Nomenclature et classification systématique

La menthe est connue dans le monde sous les noms suivant :

- ❖ En français : La menthe.
- ❖ En arabe : naenae.
- ❖ En anglais : *mentha, mint*.

D'après Quezel et Santa (1963), la systématique de menthe est la suivante :

Tableau 1. Classification de menthe

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Mentha

I.2. Description botanique

La menthe se présente sous la forme d'un arbrisseau ou d'un buisson (Fig.1) très aromatique et très ramifié pouvant atteindre un mètre de haut avec une lourde odeur semblable à celle du pin [7]. Contrairement à beaucoup d'autres menthes, celle-ci préfère les sols siliceux et les terrains acides. Elle supporte l'ombre et tolère le froid jusqu'à -5°C.



Figure 01. MENTHE POIVRÉE

1.3. Distribution géographique

- ❖ **Les feuilles** : opposées de 2-4 cm de long sont sessiles, tomenteuses, oblongues, lancéolées, linéaires, étroites recourbées sur les bords et sont souvent grises [8].
- ❖ **Les inflorescences** : de coupe carrée sont sessiles, compactes et sur montées d'une couronne de bractées florales violettes, élargies, stériles, obovale ou spatulées de 1 à 2 cm de longueur. Les bractées fertiles sont largement ovales à obovale et trilobées, brièvement acuminées, membraneuses, veinées et plus courtes que le calice. Le calice est sessile, à treize nervures avec des lobes moyens modifiés en un appendice. La Corolle est de couleur violet foncée ou mauve (Fig.2). La floraison, plus précoce que chez les autres menthes, se déroule d'avril à mai puis en automne [9].



Figure 2. Feuilles de Menthe (BOUGHEZALA 2025)

Elle est répandue dans tout le bassin méditerranéen (Europe méridionale, l'Afrique du Nord et le Moyen Orient) avec une petite disjonction sur la frontière Lybie-Egypte. Actuellement, elle a été introduite et est cultivée en Bretagne, Nouvelle Zélande et en Australie [10].

En Algérie, la menthe est largement distribuée à travers toute la périphérie nord du pays [11]. (Fig.3).

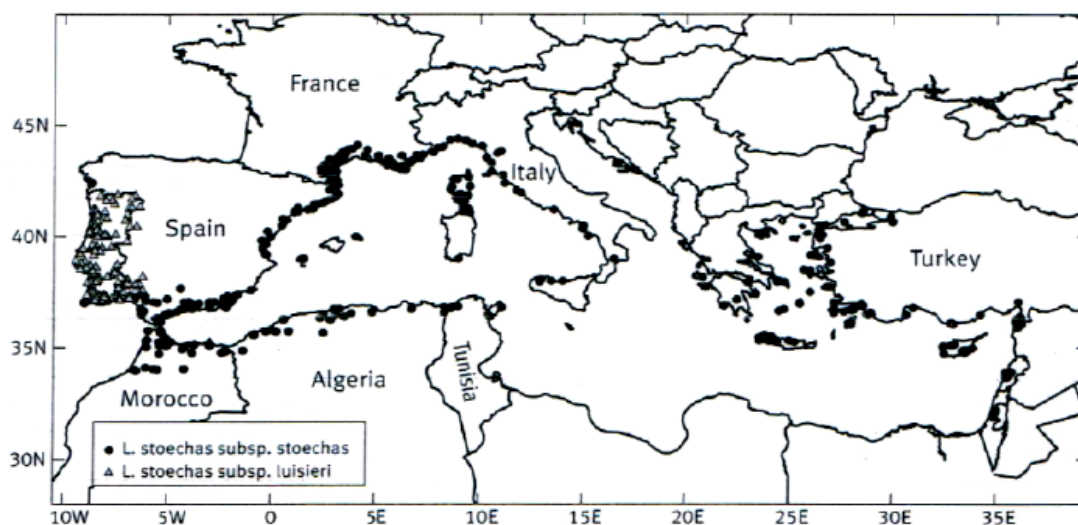


Figure 3. Distribution géographique de menthe

1.4. Utilisation médicinale

La menthe est une espèce végétale bien connue et utilisée à travers toute la région méditerranéenne pour ses vertus médicinales, Elle était utilisée par les médecins musulmans qui la considéraient comme céphalique (tonique), résolvente, désobstruant, et carminative. Ils la prescrivent pour lutter contre des infections pulmonaires et pour l'expulsion des humeurs bilieuses et flegmatiques sont également utilisée comme insectifuge [12]. La plante est également utilisée dans la médecine populaire comme antispasmodique dans les douleurs des coliques [13]. Expectorant, stimulant et pour les différentes maladies du système nerveux central, comme l'épilepsie et la migraine. Elle est appelée 'le balai du cerveau, [14] Elle est d'ailleurs utilisée sous forme de fumigation pour soigner "le mal des sinus" [15]. Cette menthe a aussi des effets positifs sur les plaies, les infections urinaires, les maladies cardiaques et l'eczéma. Finalement, elle possède également des vertus analgésiques, sédatives, antiseptiques et antimicrobiennes.

Dans la médecine populaire algérienne, les parties aériennes, surtout les inflorescences, sont utilisées comme un agent antiseptique et stimulant [16].

II. Les antioxydants

I.1. Généralités

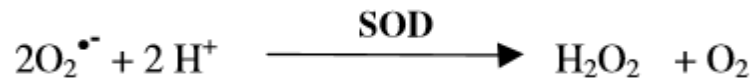
Un antioxydant est une substance à faible concentration qui a la capacité de concurrencer les substrats oxydants et de retarder ou d'empêcher l'oxydation [17].

I.2. Les types d'antioxydants

I.2.1. Les antioxydants enzymatiques

I.2.1.1. La super oxyde dismutase (SOD)

Les SOD sont des métalloprotéines qui représentent une des premières lignes de défense contre les oxydants. Elles assurent la catalyse de la dismutation mono-électronique de l'oxygène ($O_2^{\bullet-}$) en dioxygène et H_2O_2 [18].



I.2.1.2. La catalase

C'est une hémoprotéine qui décompose le H_2O_2 en H_2O et O_2 . Elle est localisée dans les peroxysomes Harnafi, H, (2008). L'activité de la catalase est liée avec la concentration



I.2.1.3. La glutathion peroxydase (GPX)

Les GPX sont des sélène-protéines qui peuvent réduire le peroxyde d'hydrogène et les hydro-péroxydes de lipides en H_2O et en alcools lipidiques, respectivement

I.2.2. Les antioxydants non enzymatiques

I.2.2.1. L'acide ascorbique

C'est le meilleur piègeur des ROS. Il empêche la peroxydation lipidique par renouvellement de la vitamine E. Il a plusieurs fonctions au système immunitaire, synthèse du collagène et des globules rouges, aussi dans le métabolisme de fer [19].

I.2.2.2. La vitamine E

C'est un ensemble d'isomères, les tocophérols et tocotriénols, son rôle est la formation d'un radical tocophéryle à partir de la réaction avec le radical peroxy (ROO^{\bullet}), elle inhibe aussi la propagation de la peroxydation lipidique [20].

I.2.2.3. Le β carotène

C'est le précurseur de la vitamine A. Il a la capacité de piéger l'oxygène singulet, et peut inhiber les réactions en chaîne de lipo-péroxydation [21].

I.2.2.4. Le sélénium

C'est un oligoélément qui se trouve dans les aliments riches en protéines animales et certains fruits secs, il joue un rôle de cofacteur de la glutathion peroxydase et réduit l'oxydation des lipoprotéines, d'ADN et des lipides [22].

II. Les polyphénols

II.1. Généralités

Les composés phénoliques peuvent être définis comme des molécules indirectement nécessaires à la vie végétale et donc appelés métabolites secondaires. Il se caractérise par la présence de cycles aromatiques avec des groupes hydroxyle libres ou des glucides.

Les polyphénols sont biologiquement actifs : ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs, agents anti-inflammatoires, inhibiteurs d'enzymes, antioxydants, agents antibactériens et antifongiques [23].

Ils sont présents dans toutes les parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs), et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques d'une plante tels que la croissance cellulaire et la germination des graines. Ces composés phénoliques permettent de distinguer les signaux entre les plantes. Ils protègent plantes de diverses attaques, telles que celles causées par des organismes pathogènes, ainsi que de divers stress. Ces composés jouent donc un rôle [24].

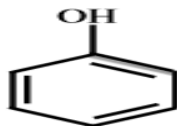


Figure 04. Structure chimique du phénol

II.2. Classification des phénols

Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques. Le tableau 01 montre quelques classes des polyphénols en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule.

Tableau 02. Quelques classes des polyphénols (Bruneton, 1999).

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine
C6	Phénols simples	Catéchol	Nombreuses espèces
C6-C1	Acides Hydroxybenzoïques	Acide p-hydroxybenzoïque	Epices, Fraise
C6-C3	Acides Hydroxycinnamiques	Acide caféique, Acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Caumarines	Scopolétine	Citrus
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone	Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Résvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol, Catéchine, Naringénine	Fruits, légumes, pomme, Raisin
	Iso flavonoïdes	Daidzéine	Soja, Pois
	Anthocyanes	Dalphinol	Dalbergia sissoo
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin
(C6-C3) n	Lignines		Bois, Noyau des fruits
(C6-C3-C6) n	Tanins	Procyanidol	Raisin rouge, Kaki

II.2.1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques font partie des formes les plus simples des composés phénoliques et se séparent en deux grands groupes distincts qui sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques.

❖ *Acides hydroxycinnamiques*

Dérivent de l'acide cinnamique et ont une structure générale le base de type (C6-C3). Existent souvent sous forme combinée avec des molécules organiques. Les degrés d'hydroxylation et de méthylation du cycle benzénique, sont responsables de la réactivité chimique importante de ces molécules [25].

❖ *Acides hydroxybenzoïques*

Ils sont les dérivés de l'acide benzoïque et ont une formule de base de type (C₆-C₁). Ils existent fréquemment sous forme d'esters ou de glucosides. Les acides hydroxybenzoïques les plus abondants sont : l'acide benzoïque, l'acide vanillique, l'acide gallique et l'acide protocatéchique [26].

II.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont généralement de puissants antioxydants ; ils constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal [27]. La structure chimique de base est constituée de deux noyaux aromatiques, que désignent les lettres A et B, reliés par un hétérocycle oxygéné (**Figure5**), que désigne Synthèse bibliographique Plantes et métabolites secondaires la lettre C. Selon le degré d'hydroxylation et l'insaturation des cycles, on distingue 5 classes de flavonoïdes : les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, et les isoflavones [28].

Les flavonoïdes sont capables de moduler l'activité de certaines enzymes et de modifier le comportement de plusieurs systèmes cellulaires, suggérant qu'ils pourraient exercer une multitude d'activités biologiques, notamment des propriétés antiseptiques vasculoprotectrices, antihépatotoxiques, antiallergiques, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et même anti tumorales significatives [29].

Ils sont principalement retrouvés dans les agrumes : citrons, oranges, pamplemousses et dans une moindre mesure dans les abricots, cerises, mûres, raisins, papayes, brocolis, et dans les tomates.

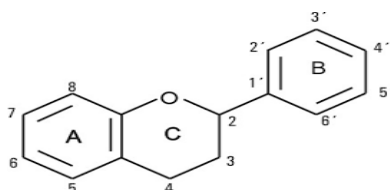


Figure 05. Structure générale des flavonoïdes

II.2.3. Les lignanes

Certains lignanes présentent la particularité d'avoir des caractéristiques structurales (cycle et groupements hydroxyle en particularité) communes avec les hormones sexuelles, leur permettant de se lier aux récepteurs d'œstrogènes. On les qualifie alors de SERM

(specificestrogenre ptormodulators) ou, plus couramment, de phytoestrogènes. Par ailleurs, comme de nombreux composés phénoliques, ils peuvent être qualifiés d'antioxydants. Les graines de lin sont une source alimentaire importante de lignanes, bien que ces composés se trouvent également en quantités moindres dans plusieurs autres céréales, dans les légumineuses et dans les légumes.

II.2.4. Les stilbènes

Ils existent en petites quantités dans l'alimentation humaine. Le polyphénol représentatif de cette classe est le resvératrol qui est le plus couramment étudié [30]. Cette molécule que l'on trouve en abondance dans le raisin et le vin, présente des activités pharmacologiques dans la régression de certains, des désordres neurologiques et du processus inflammatoire (*Figure 6*).

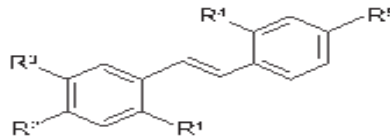


Figure 06. La structure des stilbènes

II.2.5. Les tanins

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, le plus souvent hydrosolubles, qui possèdent la capacité de précipiter les protéines, les alcaloïdes, et les polysaccharides, à partir de leur solution aqueuse. Ces métabolites secondaires sont utilisés par les plantes supérieures (arbres, plantes à fleur, etc) comme moyen de défense chimique contre les parasites [31]. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes :

❖ Les tanins condensés

Dans la littérature, les tanins condensés peuvent être également nommés proanthocyanidines ou tanins catéchiques. Ces composés, qui correspondent à des polymères de flavan-3-ols, peuvent être répertoriés en différentes classes : les monomères, les dimères, les oligomères et les polymères [32].

❖ Les tanins hydrolysables

Ce sont des oligo-ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable de molécules d'acide-phénol. Le sucre est généralement le glucose. L'acide -phénol est soit l'acide gallique

dans les tannins galliques, soit l'acide hexahydroxydiphénique et ses dérivés d'oxydation dans le cas des tanins ellagiques

Les tanins sont doués d'un pouvoir antioxydant. C'est ainsi que les tanins hydrolysables inhibent la peroxydation des lipides et que les tanins condensés inhibent la formation des superoxydes

II.3. Propriétés biologiques des polyphénols

Les polyphénols jouent également un rôle dans le contrôle de la croissance et du développement des plantes en interagissant avec diverses hormones de croissance des plantes. Il permet aux plantes de tolérer les rayons ultraviolets. Certains agissent comme des phytoalexines, comme les isoflavones, pour combattre les infections causées par des champignons ou des bactéries.

Les colorants sans azote participent au processus de pollinisation : ils attirent l'attention des insectes pollinisateurs ou, au contraire, dessinent des silhouettes pour éloigner les prédateurs. D'autres sont des inhibiteurs d'enzymes qui interfèrent avec la protection des humains contre certaines maladies.

Les polyphénols sont également utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs, colorants, arômes ou conservateurs

III. Les huiles essentielles

III.1. Généralités

Les huiles essentielles appelées encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes [33]. Elles peuvent être obtenues par expression, enfleurage, mais la méthode de distillation à la vapeur est la plus couramment utilisée. La plupart des végétaux renferment des huiles essentielles, mais habituellement en quantité infime, seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantité suffisante

III.2. Composition des huiles essentielles

Ce sont des mélanges complexes et variables de différents composés qui se dissolvent les uns dans les autres et forment une solution homogène. Ces composants appartiennent presque exclusivement à deux groupes aux origines biologiques et génétiques différentes : les terpénoïdes d'une part, et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part.

Selon Bruneto, (1999), cette structure varie en fonction :

Du nombre d'atomes de carbone qui la constitue tel que les monoterpènes et les sesquiterpènes rarement les di terpènes ;

Du caractère saturé ou insaturé des liaisons ;

De leur agencement linéaire ou cyclique ;

De la configuration spatiale (forme de chaise, de bateau, de trièdre...) et de la nature des groupes fonctionnels à savoir :

- Terpènes : RI-HC=CH-R2.
- Alcools terpéniques : R-OH.
- Cétones : RI-CO-R2.
- Phénols : C6H6-OH.
- Aldéhydes : R-CHO.
- Esters : RI-COO-R2.
- Ethers : RI-O-R2.

III.2.1. Terpènes et terpénoïdes

Une huile essentielle renferme majoritairement des terpénoïdes ou terpènes volatils, issus de la condensation d'unités isopréniques. Seuls les monoterpènes en C10 et les sesquiterpènes en C15 peuvent être extraits par distillation contrairement aux autres terpènes (di terpènes en C20 et triterpènes en C30). Ces derniers sont de formule générale $(C_5 H_8)_n$

❖ *Monoterpènes*

Et sont surtout présents chez les Conifères. Les monoterpènes sont issus de la condensation de l'isopentényle pyrophosphate (IPP) et le diméthylallyl Pyrophosphate (DMAPP), si la condensation s'effectue entre 2 molécules DMAPP, on parlera de mono terpènes irréguliers par opposition à ceux dits réguliers obtenus par condensation entre l'IPP et le DMAPP. Ils ne contribuent pas seulement à donner leurs odeurs et leurs arômes aux plantes aromatiques, mais se révèlent également actifs dans le contrôle des insectes phytophages et sont considérés comme des composés anti-infectieux ; bactéricides, virucides et fongicides [34].

❖ *Sesquiterpènes*

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

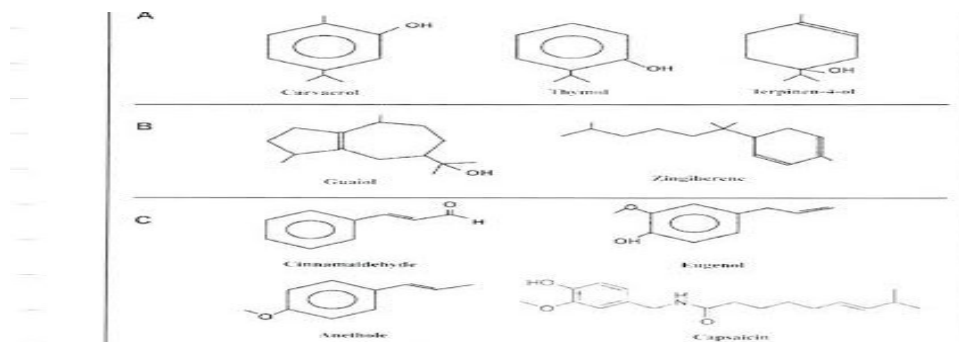


Figure 07. Structure de quelques composés des huiles essentielles (A) : monoterpénoïdes, (B) : sesquiterpénoïdes et (C) : phénylpropanoïdes.

III.2.2. Composés aromatiques

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

III.2.3. Composés d'origine divers

En générale, ils sont de faibles poids moléculaire, entraînés lors de l'hydrodistillation, sont des hydrocarbures aliphatiques à chaîne linéaire ou ramifiée porteurs de différentes fonctions par exemple : l'heptane et la paraffine dans l'essence de camomille.

III.3. Propriétés biologiques des terpènes

Les fonctions les plus combinées des terpènes/toutes classes sont des phytoalexines efficaces (agissant dans les maladies à tâche des plantes), comme insecticides naturels contre certaines familles de petits insectes, et comme défense contre diverses agressions extérieures.

De plus, ils sont également connus sous le nom de phéromones et de molécules de signalisation. Présents principalement dans les tissus des aiguilles des conifères et des résines, les terpènes peuvent jouer de nombreux rôles différents chez les conifères.

La famille de molécules connues pour être des agents défensifs contre diverses attaques sur les conifères sont principalement les monoterpènes et les sesquiterpènes

Selon certaines études, les changements environnementaux tels que le changement de température (augmentation en majorité) et l'augmentation de pollution dans l'atmosphère ainsi que les changements saisonniers auraient un effet sur la quantité de terpènes présents (en majorités les mono et les sesquiterpènes) dans les aiguilles des conifères

Cela confirme que les terpènes jouent un rôle important dans la défense des arbres, car en produisant des quantités différentes de terpènes en période de stress, cela démontre que les arbres sont aptes à répondre à d'autres stimuli et qu'ils ne répondent pas seulement aux variations des saisons.

IV. Les souches bactériens testent

IV.1. *Staphylococcus aureus*

IV.1.1. Définition

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Micrococcaceae et regroupent des espèces bactériennes (cocci à Gram positif) constituées de cellules rondes. Sa croissance optimale est atteinte à 37°C, mais la germination a lieu à 10°C et 40°C. Cultiver dans un milieu à forte concentration de sel, tel que le milieu de Chapman avec 7,5 % de NaCl [35].

IV.1.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Ficcus
- Classe : Micrococci
- Ordre : Micrococcales
- Famille : Micrococcaceae
- Genre : *staphylococcus*
- Espèce : *staphylococcus aureus*

IV.2. *Escherichia coli*

IV.2.1. Définition

Les *Escherichia coli* Ce sont des Bacilles à gram négatif, qui se développent sur gélose ordinaire (par exemple : gélose nutritive GN). Ils sont habituellement mobiles et pourvus defimbriae, ont un métabolisme respiratoire lorsque les conditions sont anaérobies. Leur

réactions typiques sont les suivantes : fermentent le glucose, indol+, uréase-négative, H₂S-négative, lactose positif, gazogène, mais ne produisent pas d'acétone [36].

IV.2.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Enterobacteriales
- Famille : Enterobacteriaceae
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia Coli*

IV.3. *Pseudomonas aeruginosa*

IV.3.1. Définition

P. aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, fine, droite et très mobiles grâce à un flagelle polaire. Elle a une ciliature monotriche et est dépourvue de spores et de capsules. Cette bactérie croit à 37°C et même à 42°C. Elle dégage une odeur aromatique de seringa. La caractéristique fondamentale de cette espèce est la production de pigments spécifiques : pyoverdine et pyocyanine [37].

IV.3.2. Classification

- Domaine : Bactéria
- Phylum : Proteobacteria
- Classe : Gammaproteobacteria
- Ordre : Pseudomonasales
- Famille : Pseudomonaceae
- Genre : *Pseudomonas*
- Espèce : *Pseudomonas Aeruginosa*.

L'activité larvicide

Un produit phytosanitaire **larvicide** est une substance active ou une préparation ayant la propriété de tuer les larves.

Pour le besoin de la présente étude, nous avons choisi les espèces végétales suivantes : Menthe poivrée et lavande, ces plantes sont utilisés traditionnellement sous forme de sèche pour tuer les larves qui ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies comme la larve d' *Myelois* [38], choisie pour notre étude pour détecter l'activité larvicide des extraits de ces plantes.

Partie 2 :
Etude expérimentale

I. Matériel végétal

La plante étudiée est la menthe poivrée est une plante herbacée de la famille des Lamiacées. Les feuilles de plantes récoltées dans la zone de Tonga Park national d'El-Kala (PNEK) situées à l'Est Algérien et ceci durant le mois de Avril 2025.



Figure 08 : Menthe poivrée de la région PNEK (BOUGHEZALA) 2025

II. Préparation des extraits bruts de la plante

Les extraits des feuilles de la plante sont obtenus par **macération**. Cette méthode d'extraction consiste en un simple contact entre les feuilles et le solvant.

Les feuilles préalablement séchées à l'ombre, sont broyées finement au mixeur. 5 g de la poudre obtenue sont mélangés à 100 ml de solvant (**eau 100% ou méthanol 30%**). Le mélange est porté sous agitation douce pendant 24h, à température ambiante. Ensuite, il est filtré sur papier filtre (wattman). Le filtrat obtenu est transvasé dans une grande boîte de pétrie en verre qui est placée dans une étuve (40°C) jusqu'à complète évaporation. La pâte sèche obtenue est conservée au congélateur jusqu'à utilisation ultérieure.

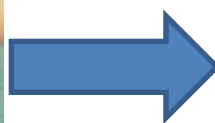


Figure09 : Filtration et séchage de l'extrait.

Les rendements d'extrait ont été calculés en utilisant la formule suivante :

$$\text{Rendement (\%)} = m_0/m_1 \times 100$$

m₀ : Masse en gramme de l'extrait brut évaporé.

m₁ : Masse en gramme de la matière végétale initiale sèche (5 g).

III. Analyse des composés phytochimiques

III. 1. Screening phytochimiques

III. 1.1. Les alcaloïdes : 1g de la poudre séchée et broyée sont mélangés avec 10 ml d'HCl à 5% dans un récipient. Après une demi-heure de macération. On filtre le mélange on additionne ou filtrat quelques gouttes de réactif de Mayer, l'apparition d'un précipité blanc jaunâtre indique la présence d'alcaloïdes [39].

III. 1.2. Les flavonoïdes : 10g de la poudre sont macérés dans 150 ml d'HCl à 1% pendant 24h. Après avoir filtré le mélange, on procède au test suivant : On prend 10 ml du filtrat, on le rend basique par l'ajout du NH₄OH, après trois heures, l'apparition d'une couleur jaune clair dans la partie supérieure du tube à essai indique la présence des flavonoïdes [39].

III. 1.3. Les tannins : 10g de poudre sèche, sont placés dans 100ml de MeOH à 80%. Après 15 mn d'agitation les extraits sont filtrés et mis dans des tubes. L'ajout de gouttes d'une solution de FeCl₃ à 1% permet de détecter la présence ou non des tannins. La couleur bleu ou vert indique la présence des tannins [40].

III. 1.4. Les huiles volatiles : macérer 10g de la poudre dans 40 ml d'eau distillée avec agitation constante 30 mn, l'extrait est filtré. 2ml du filtrat est secoué avec 0,1 ml de NaOH dilué et une petite quantité de HCl dilué, un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles [40].

III.2. Dosage des polyphénols totaux

a/Principe

Une réaction d'oxydoréduction est à la base de ce dosage. Le réactif de Folin-ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acides phosphotungstique (H₃ PW₁₂ O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃ PMO₁₂ O₄₀). Il est réduit au cours de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W₈ O₂₃) et de molybdène (Mo₈ O₂₃). Cette

coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption entre 700 et 750 nm

b/ Protocole

Le dosage des polyphénols est réalisé selon la méthode de Dewanto et al., (2002)[41] reprise et modifiée par Harnafi, H., & Amrani, S. (2008). A 100 µl d'extrait (dilution appropriée) ou de standard, on ajoute 400 µl du réactif de Folin-ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau ultra pure). Le mélange réactionnel est agitée, puis après 5 mn, la couleur bleue apparue est intensifiée et stabilisée par l'ajout de 500 µl de sodium (Na_2CO_3) à 7.5 %. Après agitation au vortex, le mélange est incubé pendant 1h à l'obscurité et à température ambiante. La densité optique (DO) est mesurée à $\lambda=725$ nm, à l'aide d'un spectrophotomètre (JENWAY 6300). Le tube « blanc » ne contenant pas d'extrait, sert à ajuster le zéro de l'appareil. La quantification des polyphénols est réalisée à partir d'une gamme étalon d'acide gallique en concentrations finales (0.031 à 0.5 mg/ml) en milieu aqueux. Les teneurs en polyphénols sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme de résidu sec (mg EAG/g MS).

IV. Extraction des huiles essentielles foliaires

L'extraction des huiles essentielles à partir des feuilles *de menthe poivrée* a été réalisée par hydro distillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger. Dans le ballon du montage d'hydro distillation, on place 50 g de feuilles (préalablement séchées à l'ombre et broyées) qu'on recouvre avec 300 ml d'eau distillée. L'ensemble est porté à ébullition pendant 4 heures.

Les vapeurs chargées de substances volatiles traversent le réfrigérant et se condensent. L'eau aromatique et l'huile essentielle se séparent par différence de densité. L'huile essentielle est récupérée du haut de l'essencier à l'aide d'une micropipette. Elle est placée dans des tubes en verre fermés hermétiquement pour les préserver de l'air et de la lumière, puis elle est préservée à 4°C.

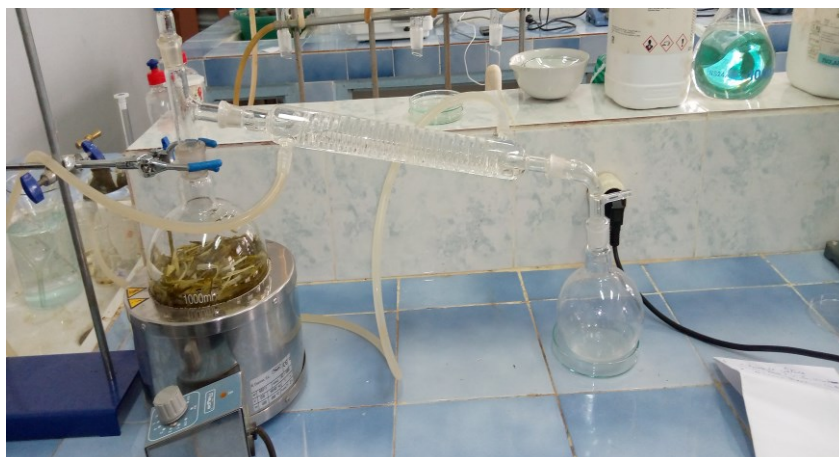


Figure 10 : Extraction par hydro distillation

IV.1. Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle (RHE) 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). Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$\text{RHE (\%)} = (M'/M) \times 100$$

RHE : Rendement en huile essentielle en %.

M' : Masse d'huile essentielle en gramme.

M : Masse de la matière végétale sèche utilisée en gramme.

V. Evaluation de l'activité antibactérienne

V.1. Matériel

V.1.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans les tests font partie des microorganismes pathogènes. Il s'agit de souche **Gram+** (*Staphylococcus aureus*) et de deux souches **Gram-** (*Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*).

Ces souches ont été isolées cliniquement et fournies par le laboratoire de microbiologie de l'hôpital Chadli Benjedid d'El-Tarf.

V.1.2. Milieux de culture

◆ Milieu Luria –Bertani (LB)

Le milieu LB solide, de composition ci-dessous, a été utilisé pour la culture (repiquage) des bactéries indicatrices.

- Extrait de levure 5 g/l
- Tryptone 10 g/l
- NaCl 10 g/l
- Agar 15 g/l

Le milieu LB liquide (sans agar), a été utilisé pour le test de micro-dilution sur les plaques de 96 puits à fond plat.

◆ Milieu MH (Muller Hinton)

Le milieu MH a été utilisé dans les tests d'activités antibactériennes sur milieu solide. Ce milieu présente la composition suivante :

- Infusion de viande de bœuf 300 ml
- Peptone de caséine 17.5 g
- Amidon de maïs 1.5 g
- Agar 17 g

V.2. Méthodes**V.2.1. Préparation des extraits****V.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne par diffusion sur milieu solide****V.2.2.1. Test préliminaire**

Tout le matériel utilisé ainsi que les milieux de culture ont été préalablement stérilisés. Ce test consiste à déterminer la présence ou l'absence d'inhibition de la croissance bactérienne qui sera visualisée par l'existence d'une zone d'inhibition. A cet effet, les souches testées ont été repiquées sur culture solide LB et incubées pendant une nuit à 30°C. Des suspensions bactériennes ont été préparées dans l'eau physiologique stérile à raison de 10⁸ CFU/ml, puis étalées à l'aide d'un écouvillon sur des boîtes de Petri contenant le milieu Muller Hinton.

30 μl de différents extraits, sont entreposés délicatement sur des disques Whatman de 6 mm de diamètre. Cette quantité a été choisie arbitrairement selon la littérature. Après séchage, ces disques sont ajustés, sur les boîtes de Petri préalablementensemencées avec les souches indicatrices. Pour ce qui est des extraits, ils sont déposés dans des puits creusés dans la gélose nutritive préalablementensemencée avec les bactéries. Les puits sont réalisés à l'aide des embouts pour micropipette (embouts bleus pour le dépôt de 100 μl d'extrait et embouts jaunes pour 50 μl) tout en prenant la précaution d'enfermer le fond des puits avec la gélose et de laisser bien sécher sous la hotte. Après incubation pendant une nuit à 30°C, le test d'activité antibactérienne est estimé par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition autour du disque ou du puits. Deux répétitions ont été effectuées pour chaque test.

V.2.2.2. Détermination de la quantité minimale inhibitrice (QMI)

La Quantité Minimale Inhibitrice (QMI) est définie comme étant la plus petite quantité de produit en dessous de laquelle aucune zone d'inhibition n'est visible. La QMI a été déterminée pour les extraits ayant révélé une activité antibactérienne lors du test préliminaire. Des dilutions en cascade de $\frac{1}{2}$ ont été réalisées avec les solvants d'extraction correspondants selon le schéma ci-dessous : par exemple, 100 μl d'extrait sont mélangées à 100 μl de solvant (dilution $\frac{1}{2}$). Après homogénéisation, on prélève 100 μl de cette dilution auxquels on leur ajoute 100 μl de solvant (dilution $\frac{1}{4}$) et ainsi de suite jusqu'à la dernière dilution à laquelle on lui retransche 100 μl .

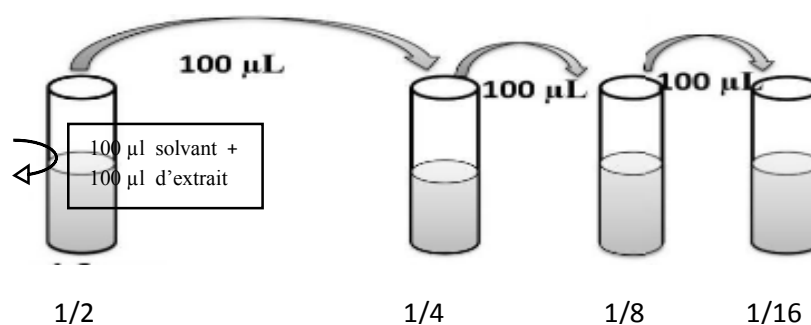


Figure 11 : méthode de dilution

On prélève 30 μl de chaque dilution et on teste l'activité anti bactérienne selon les mêmes conditions expérimentales décrites dans le test préliminaire d'évaluation.

VII.1. L'activité larvicide :

L' *myeloïs* est la larve de choix, qui est tuée traditionnellement par les feuilles des plantes. Elle vit dans les zones humides, arides et sahariennes tout au long de l'année, se considère comme le premier vecteur des maladies parasitaires qui touche de façon égale l'homme, les animaux et les plante (fruits, ...).

VII.2. Détermination de l'effet larvicide des extraits de la plante

A partir d'extrait brut de plante, des concentrations de 0,4%- 0,6%- 0,8% et 1% ont été préparées pour chaque extrait, 20 ml de ces derniers sont additionnés à des boites de pétris qui contiennent des dattes (**gharss**) larvaires. À l'aide d'une pipette pasteur 18 larves sont prélevées et mis dans chaque boite ainsi que le témoin qui contient 5 g dattes (gharss) larvaire.

Après un temps de contact de 24h, on dénombre les larves mortes et vivantes et on calcule le pourcentage de mortalité.

Résultats et discussions

I. Rendements d'extraction des polyphénols

Le rendement d'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait est celui du matériel végétal initial.

Les résultats de ses différents extraits sont mentionnés en tableau 03.

Tableau 03. Tableau récapitulatif des rendements d'extraction.

Matériel végétal	Extrait	Rendement
<i>Menthe poivrée</i> (région d'El-Tarf)	Aqueux (EA1)	18.8 %
	Méthanol à 30% (EM2)	15.2 %

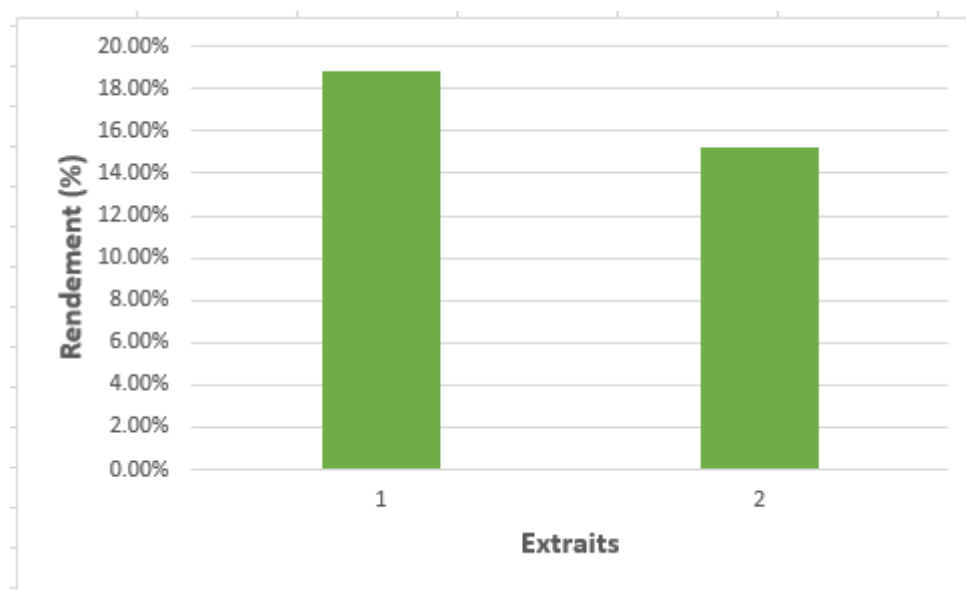


Figure 12. Rendements des différents extraits des feuilles *menthe poivrée*.

On remarque que le rendement d'extraction avec l'eau est meilleur que celui avec le mélange méthanol-eau et ceci, pour les deux extraits (EA1 et EM2).

Cette constatation est conforme à certaines études que le rendement des extraits aqueux plus supérieurs que celle des extraits méthanoliques Comme plusieurs d'autre étude ont trouvées que les taux de rendement de l'extraction des polyphénols réalisés avec de l'eau sont supérieurs à ceux obtenus avec des solvants Khelifi et *al*, (2011) [42]. Par exemple, les rendements

d'extraction déterminés à partir d'A.unedo L étaient de l'ordre de 2,3 %, 2,6 % et 24 % d'extraits à l'acétone, à l'éthanol et à l'eau respectivement.

Le rendement d'extraction semble être influencé par le degré de polarité du solvant, ainsi que par le degré de polarité des divers composants de l'extrait tels que les constituants phénoliques.

II. Rendements d'extraction en huiles essentielles

L'extraction par hydrodistillation des feuilles de menthe poivrée a fourni des huiles essentielles (HEs) ayant une coloration blanche et une odeur presque signifiante et forte. Les rendements en HEs est 0,47%

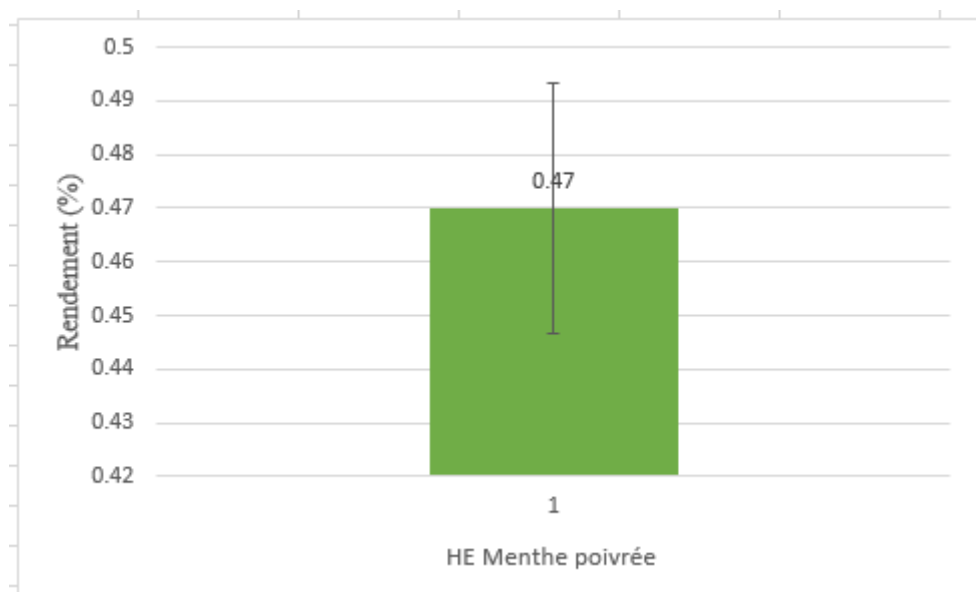


Figure 13. Rendements en huiles essentielles des feuilles de menthe poivrée.

Les facteurs qui peuvent avoir un impact direct sur les rendements en HEs sont entre autres (le séchage...)

Dans notre cas, l'extraction des HEs a été faite à partir du même organe à savoir la partie foliaire, et la récolte ainsi que le séchage ont été réalisés à la même période. On admet alors que le climat, la zone géographique ainsi que le type de sol sont probablement les facteurs qui sont à la tête de cette différence dans le taux des rendements.

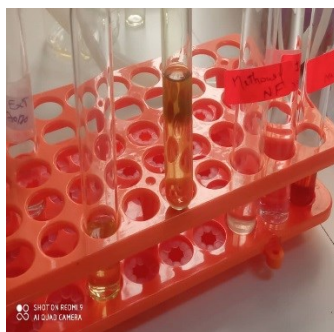
III. Caractéristique phytochimiques des extraits de menthe poivrée

III. 1. Screening phytochimiques

Les résultats du screening phytochimiques sont représentés dans le tableau 04

Métabolites	Test
Les Alcaloïdes	+
Les Flavonoïdes	+++
Les Tannins	++
Les Huiles volatiles	+++

(+++) Abondamment présent ; (++) Présenté par un pourcentage significatif ; (+) Présence
 La plante "*menthe poivrée*" les flavonoïdes, HE sont très abondantes dans les feuilles, suivi d'autre composant les tannins, et les alcaloïdes sont présenté par un pourcentage significatif.
 Les résultats de screening phytochimiques montrent que l'espèce est très riche par les métabolites secondaires



III.2. Teneur en phénols totaux

La teneur en phénols totaux est déterminée à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique : $y = 2.1034x + 0.2536$ (Figure 13) avec un coefficient de régression de la droite ($R^2 = 0.9839$) proche de 1 prouvant ainsi la fiabilité de cette courbe dans la détermination des phénols totaux.

Le résultat est exprimé en milligramme équivalent acide gallique par résidu sec (mg EAG/g RS).

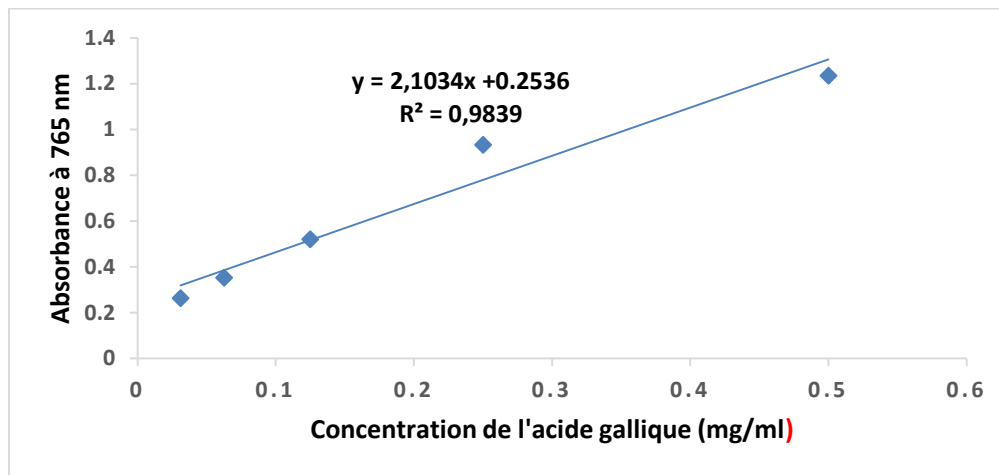


Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

La teneur en polyphénols totaux (mg EAG/g RS) déterminée pour l'extrait sont de l'ordre de : 38,72 mg EAG/gm MS (Figure 14).

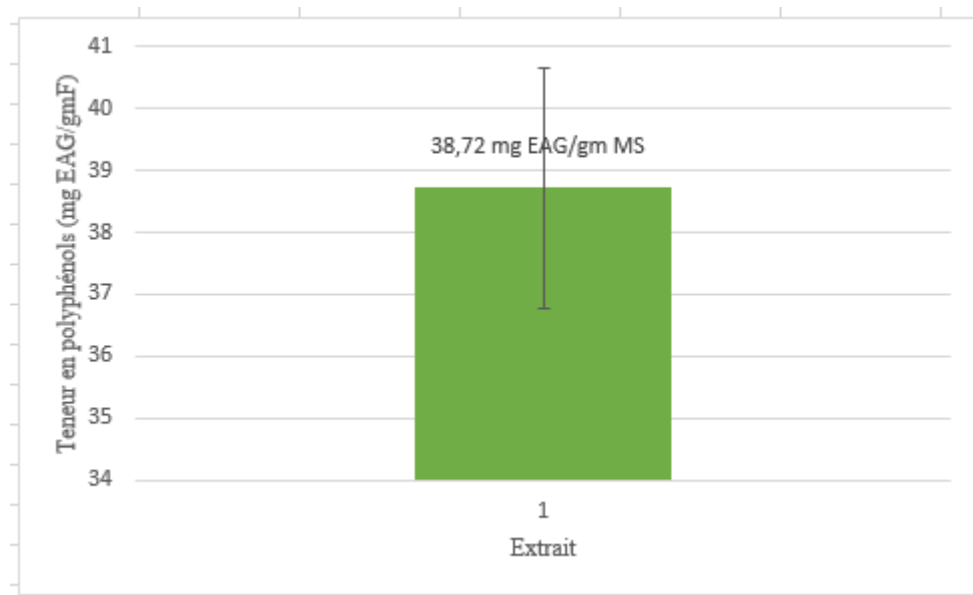


Figure 15. Teneur en phénols totaux d'extrait des feuilles de menthe poivrée.

A la lumière de ces résultats, il paraît que la plante collectée est riche en polyphénols, les travaux réalisés dans différentes régions du monde, ont rapporté, pour les extraits des feuilles de menthe poivrée, des concentrations variables en phénols totaux. Par exemple, Amarouche, N et al., (2018) [43] et Heinrich (2005) [44] ont indiqué des valeurs respectives de 612.09 et 37,6 (mg EAG/g d'extrait) pour le menthe poivrée issu de deux régions différentes de

l'Espagne. D'autre part, Doukani et Tabak (2014), ont rapporté des concentrations de 17.125 et 59.20 (mg GAE/g d'extrait) pour le menthe poivrée provenant respectivement de Tlemcen et de Tiaret (deux régions en Algérie).

III. 2. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'aromatogramme sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau 03. Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait aqueux des feuilles de menthe poivrée (région de PNEK)

Tableau 04. Diamètres d'inhibition des souches bactériennes par l'extrait aqueux des feuilles de menthe poivrée (PNEK)

	Dilution									
	EA		Dilution ½		Dilution 1/4		Dilution 1/8		Dilution 1/16	
Souches bactériennes	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S	DZI	S
<i>Staphylococcus</i>	24.8	+++	20.4	+++	16.2	+++	14.6	++	11.6	+
<i>E.coli</i>	4.6	+	4.2	+	3.3	+	2	+	1	+
<i>Pseudomonas</i>	8.2	+	7.4	+	6.2	+	5.6	+	2	+

S : Signification, DZI : diamètre de zone d'inhibition (mm), EA : Extrait aqueux, +++ : activité intense, ++ : activité modérée, + : activité faible.

Le potentiel antibactérien l'extrait aqueux des feuilles de menthe poivrée contre des souches de trois Gram (+) et de deux Gram (-) par la présence de zones d'inhibition. L'activité antibactérienne est caractérisée comme suit : (+) une activité faible (inhibition zone ≤ 12 mm), (++) activité modérée (12 mm < inhibition zone < 20 mm) et, (+++) activité intense (zone d'inhibition ≥ 20 mm). (Lv et al, 2009) [45].

Comme la montre le tableau 03, *Staphylococcus aureus* sont les souches les plus sensibles l'extrait aqueux des feuilles de menthe poivrée, La souche bactérienne qui est moyennement sensibles : *Pseudomonas aeruginosa*. Par contre les souches bactériennes qui sont faiblement sensibles sont *E. Coli*.

III.3. L'activité larvicide :

Après l'exposition des larves d'*myelois* aux différentes concentrations des extraits d'un temps de contact de 24h, on dénombre des larves mortes et vivantes (Abbott OMS, 2004a) [46]. On calcule le pourcentage de mortalité suivant la formule :

$$M(\%) = \frac{NLm}{NLtotal} \times 100$$

M(%) : Pourcentage de mortalité

NLm : Nombre de larves mortes

NLtotal : Nombre des larves total

Après le calcul du pourcentage de mortalité des larves on voit qu'il y'a une relation direct de ce dernier avec la concentration des extraits.

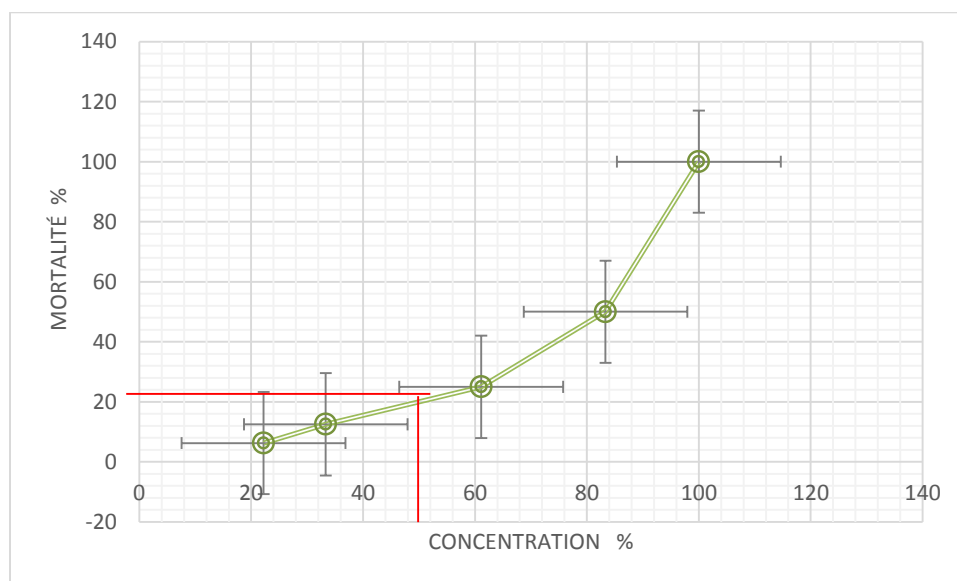


Figure 16 : Mortalité (%) des larves d'*myelois* en fonction de la concentration d'extrait (%) de la plante (*menthe poivrée*) après 24h de contact.



Dans cette étude l'extrait testé a révélé une activité larvicide avec un effet concentration dépendant.

Au cours de cette étude, l'activité larvicide d'extrait d'espèce végétale permettent d'une part de confirmer les pratiques traditionnelles des plantes comme insecticides.

Conclusion

Le présent travail vise à évaluer les activités antibactériennes et larvicides de l'extrait phénolique des feuilles de menthe poivrée récoltées dans la région de l'est algérien (PNEK- El Tarf). Il a été prouvé que l'efficacité de l'extraction à l'eau est meilleure que celle du mélange méthanol-eau pour les deux extraits. De plus, le rendement en HE était plutôt faible (0,47 %)

Au cours de cette étude, les résultats ont montré une activité antibactérienne contre le *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

L'activité larvicide d'extrait de l'espèce végétale permet d'une part de confirmer les pratiques traditionnelles des plantes comme insecticide et d'autre part de confirmer que les métabolites secondaires de la plante sont responsables de cette activité.

Sachant que notre plante on peut l'utiliser comme un conservateur

*Références
bibliographiques*

- [01]. Bursal, E., & Köksal, E. (2011). Evaluation of reducing power and radical scavenging activities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.). *Food Research International*, 44(7), 2217-2221.
- [02]. Merakeb, M. S., Brihi, N., Ferhat, R., Aziez, M., & Yanat, B. (2022). Alkaloids extract from *Linum usitatissimum* attenuates 12-OTetradecanoylphorbol-13-Acetate (TPA)-induced inflammation and oxidative stress in mouse skin. *Anti-Inflammatory & Anti-Allergy Agents in Medicinal Chemistry* (Current Medicinal Chemistry-Anti-Inflammatory and Anti-Allergy Agents), 21(3), 179-187.
- [03]. GUEDIRI, I. (2022). *Etude in vitro de l'activité biologique des différents extraits de Solanum nigrum L. (El-Oued)* (Doctoral dissertation, UNIVERSITÉ KASDI MERBAH OUARGLA).
- [04]. Azzi, R., Chaouche, T. M., Belyagoubi-Benhammou, N., Djabou, N., & Gaouar, S. B. S. (2021). Aromatic and Medicinal plants: Virtues and development prospects. *Genetics & Biodiversity Journal*, 5(2).
- [05]. Aubert, C., Bruaut, M., & Chalot, G. (2022). Spatial distribution of sugars, organic acids, vitamin C, carotenoids, tocopherols, 6-methoxymellein, polyacetylenic compounds, polyphenols and terpenes in two orange Nantes type carrots (*Daucus carota* L.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 108, 104421.
- [06]. Alamgir, A. N. M., & Alamgir, A. N. M. (2017). Pharmacognostical Botany: Classification of medicinal and aromatic plants (MAPs), botanical taxonomy, morphology, and anatomy of drug plants. *Therapeutic use of medicinal plants and their extracts: Volume I: Pharmacognosy*, 177-293.
- [07]. Yu, E. J., Kim, T. H., Kim, K. H., & Lee, H. J. (2004). Aroma-active compounds of *Pinus densiflora* (red pine) needles. *Flavour and fragrance journal*, 19(6), 532-537.
- [08]. Turner, G. W., Gershenzon, J., & Croteau, R. B. (2000). Distribution of peltate glandular trichomes on developing leaves of peppermint. *Plant physiology*, 124(2), 655-664.
- [09]. Zheljajzkov, V. D., Cantrell, C. L., Astatkie, T., & Ebelhar, M. W. (2010). Peppermint productivity and oil composition as a function of nitrogen, growth stage, and harvest time. *Agronomy Journal*, 102(1), 124-128.
- [10]. Däumer, C., Greve, C., Hutterer, R., Misof, B., & Haase, M. (2012). Phylogeography of an invasive land snail: natural range expansion versus anthropogenic dispersal in *Theba pisana pisana*. *Biological Invasions*, 14, 1665-1682.
- [11]. Kehili, S., Boukhatem, M. N., Hussein, E. Z., Kellou, D., Benelmouffok, A. B., Ferhat, M. A., ... & Setzer, W. N. (2020). In vitro growth inhibition of pathogenic and food spoilage yeasts and fungi by peppermint (*Mentha piperita*) essential oil and survival of *Saccharomyces cerevisiae* in fruit juices. *Food and Environment Safety Journal*, 19(2).

[12]. Silva, H. (2020). A descriptive overview of the medical uses given to *Mentha* aromatic herbs throughout history. *Biology*, 9(12), 484.

[13]. Balakrishnan, A. (2015). Therapeutic uses of peppermint-a review. *Journal of pharmaceutical sciences and research*, 7(7), 474.

[14]. Abo-Elghiet, F., Elosaily, H., Hussein, D. K., El-Shiekh, R. A., A'aqoulah, A., Yousef, E. M., ... & El-Dessouki, A. M. (2025). Bridging Gaps in Migraine Management: A Comprehensive Review of Conventional Treatments, Natural Supplements, Complementary Therapies, and Lifestyle Modifications. *Pharmaceuticals*, 18(2), 139.

[15]. McKay, D. L., & Blumberg, J. B. (2006). A review of the bioactivity and potential health benefits of peppermint tea (*Mentha piperita* L.). *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 20(8), 619-633.

[16]. Shaikh, S., Yaacob, H. B., & Rahim, Z. H. A. (2014). Prospective role in treatment of major illnesses and potential benefits as a safe insecticide and natural food preservative of mint (*Mentha* spp.): a Review. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 4(35), 1.

[17]. Gupta, D. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 546.

[18]. R Buettner, G. (2011). Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)*, 11(4), 341-346.

[19]. Boo, Y. C. (2022). Ascorbic acid (vitamin C) as a cosmeceutical to increase dermal collagen for skin antiaging purposes: emerging combination therapies. *Antioxidants*, 11(9), 1663.

[20]. Galli, F., Varga, Z., Balla, J., Ferraro, B., Canestrari, F., Floridi, A., ... & Buoncristiani, U. (2001). Vitamin E, lipid profile, and peroxidation in hemodialysis patients. *Kidney International*, 59, S148-S154.

[21]. Piergiacomi, V. A., Palacios, A., & Catala, A. (1996). Vitamin A inhibits lipoperoxidation ascorbate-Fe⁺⁺ dependent of rat kidney microsomes and mitochondria. *Molecular and cellular biochemistry*, 165, 121-125.

[22]. Kühn, H., & Borchert, A. (2002). Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(2), 154-172.

[23]. Sychrová, A., Koláriková, I., Žemlička, M., & Šmejkal, K. (2020). Natural compounds with dual antimicrobial and anti-inflammatory effects. *Phytochemistry reviews*, 19, 1471-1502.

- [24]. Mila, I., Scalbert, A., & Expert, D. (1996). Iron withholding by plant polyphenols and resistance to pathogens and rots. *Phytochemistry*, 42(6), 1551-1555.
- [25]. Sova, M. (2012). Antioxidant and antimicrobial activities of cinnamic acid derivatives. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 12(8), 749-767.
- [26]. Da Silva, A. P. G., Sganzerla, W. G., John, O. D., & Marchiosi, R. (2023). A comprehensive review of the classification, sources, biosynthesis, and biological properties of hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acids. *Phytochemistry Reviews*, 1-30.
- [27]. Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, 22(1), 19-34.
- [28]. Bulea, M., Khanb, F., & Niazd, K. (2015). Flavonoids (flavones, flavonols, flavanones, flavanonols, flavanols or flavan-3-ols, isoflavones, anthocyanins, chalcones/coumestans). *Recent Advances in Natural Products Analysis*, 42-56.
- [29]. Xing, P., Zhong, Y., Cui, X., Liu, Z., & Wu, X. (2023). Natural products in digestive tract tumors metabolism: Functional and application prospects. *Pharmacological Research*, 191, 106766.
- [30]. Saim, L., & Saidi, T. (2022). *Extraction et dosage des polyphénols totaux du Ciste de Montpellier (Cistus Monspeliensis L.). Evaluation de l'effet bio-insecticide de la poudre des feuilles sur le ravageur du riz Sitophilus Oryzae L* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- [31]. Okuda, T., & Ito, H. (2011). Tannins of constant structure in medicinal and food plants—hydrolyzable tannins and polyphenols related to tannins. *Molecules*, 16(3), 2191-2217.
- [32]. Vera, M., & Urbano, B. F. (2021). Tannin polymerization: an overview. *Polymer Chemistry*, 12(30), 4272-4290.
- [33]. Blenau, W., Rademacher, E., & Baumann, A. (2012). Plant essential oils and formamidines as insecticides/acaricides: what are the molecular targets?. *Apidologie*, 43, 334-347.
- [34]. Chizzola, R. (2013). Regular monoterpenes and sesquiterpenes (essential oils). In *Natural products* (pp. 2973-3008). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [35]. Otter, J. A., & French, G. L. (2012). Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*: the case for a genotypic definition. *Journal of Hospital Infection*, 81(3), 143-148.
- [36]. Cobo-Simón, M., Hart, R., & Ochman, H. (2023). *Escherichia coli*: what is and which are?. *Molecular Biology and Evolution*, 40(1), msac273.
- [37]. Moore, N. M., & Flaws, M. L. (2011). Introduction: *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical laboratory science*, 24(1), 41.

-
- [38]. Perring, T. M., El-Shafie, H. A., & Wakil, W. (2015). Carob moth, lesser date moth, and raisin moth. *Sustainable pest management in date palm: Current status and emerging challenges*, 109-167.
- [39]. Muhammad Bilal Sadiq *et al*, (2015). Screening of phytochemicals and in vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del., *Journal of Industrial Crops and Products*, 77, 873-882.
- [40]. Sofowora, E. A. (1994). Medical plant and traditional medicine in Africa. *University of Ife Press. Nigeria*, 1, 1-23.
- [41]. Dewanto, V., Wu, X., Adom, K.K., Liu, R.H. (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, 50, 3010-3014.
- [42]. Khelifi, D., Hamdi, M., Hayouni, A. E., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2011). Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis activities of various extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) leaves. *Molecules*, 16(12), 10592-10603.
- [43]. Amarouche, N., & Amouchi, F. (2018). *Extraction, analyse et évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des polyphénols de la menthe poivrée* (Doctoral dissertation, UMMTO).
- [44]. Heinrich, J., Valentová, K., Vacek, J., Palíková, I., Zatloukalová, M., Kosina, P., ... & Šimánek, V. (2013). Metabolic profiling of phenolic acids and oxidative stress markers after consumption of *Lonicera caerulea* L. fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(19), 4526-4532.
- [45]. Lv, P. C., Li, H. Q., Xue, J. Y., Shi, L., & Zhu, H. L. (2009). Synthesis and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 44(2), 908-914.
- [46]. OMS, 2004a. Lutte contre les vecteurs du paludisme. *WHO/CDS/WHOPES/2002.5Rev.1*