

# MEMOIRE

Présentée par :

**LAGEUL Amina**

Pour l'obtention de diplôme de

**MASTER**

Filière : Chimie

Spécialité : Chimie Analytique

Thème

**Screening phytochimique, extraction et l'évaluation de l'activité  
Antibactériennes de huile essentielle de Menthe**

Soutenue le : 11/07/2019

Devant le Jury composé de :

**Nom et Prénom**

**Grade**

**Boudjema Boughrara**  
**MOKRANI Karima**  
**TOUDERT Nadia**  
**ZERNIZ Nawal**  
**BELAID Soraya**

**MCB**  
**MAA**  
**MCB**  
**MCB**  
**MAA**

**Univ. D'El-Tarf**  
**Univ. D'El-Tarf**  
**Univ. D'El-Tarf**  
**Univ. D'El-Tarf**  
**Univ. D'El-Tarf**

**Président**  
**Examinatrice**  
**Examinatrice**  
**Promotrice**  
**CO- promotrice**

Année Universitaire : 2018/2019

# Sommaire

---

<b>Sommaire</b>	<b>Page</b>
REMERCIEMENT	
DEDICACE	
RESUMES.....	III
LISTE DES FIGURES .....	VI
LISTE DES PHOTOS.....	VII
LISTE DES TABLEAUX .....	VIII
SYMBOLES ET ABREVIATIONS.....	IX
INTRODUCTION GENERAL.....	1
<b>Chapitre I: Généralité</b>	
I.1. La phytothérapie.....	2
I.1.1. Historiques.....	2
I.1.2.Définition.....	2
I.1.3. Types de phytothérapie et leur principe.....	2
I.1.3.1. Aromathérapie.....	2
I.1.3.2. Gemmothérapie.....	2
I.1.3.3. Herboristerie.....	3
I.1.3.4. Homéopathie.....	3
I.3.5. La phytothérapie chinoise .....	3
I.1.3.6. La phytothérapie pharmaceutique.....	3
I.1.4. Les avantages et les inconvénients phytothérapie.....	3
I.1.4.1. Les avantage.....	3
I.1.4.2. Les inconvénients.....	4
I.2.Les plantes médicinales.....	4
I. 2.1.Définition.....	4
I.2.2 .La récolte des plants médicinaux.....	5
I.2.3. Le séchage.....	6
I.2.4. La conservation.....	6
I.2.5. Importance des plants médicinaux.....	6
I.2.6. Sources des plants médicinaux.....	6
I.3. Etude botanique de la menthe.....	7
I.3.1. Historique .....	7
I.3.2. Nom vernaculaires .....	8
I.3.3. Description botanique .....	9

# Sommaire

---

I.3.4. Classification .....	9
I.3.5. Composition chimique.....	9
I.3.6. Différentes variétés.....	10
<b>Chapitre II : Les huiles essentielles</b>	
II.1. Historique.....	11
II.2. Définition.....	11
II.3. Domaine d'utilisation des huiles essentielles .....	12
II.4. Extraction des huiles essentielles.....	12
II.4.1.L'Hydrodistillation.....	13
II.5. Screening du phytochimiques.....	14
II.5.1. Introduction.....	14
II .5. 2. Définition Screening phytochimiques.....	14
II.5.2.1. Les alcaloïdes.....	15
II .5.2 .2. Les saponosides (test de mousse).....	15
II .5.2.3. Les flavonoïdes.....	15
II .5 2.4. Les tannins.....	16
II .5.2.5. Les cardénolides.....	16
II .5 .2.6. Les stérols.....	17
II .5 .2.7. Les huiles essentielles.....	17
II .5 .2.8. Anthocyanes.....	17
II .5.2.9. Quinones libres.....	18
II-6. Toxicité des huiles essentielles.....	18
II.7. Activité antibactérienne.....	19
II.7.1. Généralités sur les bactéries.....	19
II.7.2. Les souches bactériennes.....	19
II.7.2.1. Staphylococcus aureus.....	19
II.7.2.2. Escherichia coli.....	19
II.7.2.3. Serratia M.....	19
II.7.2.4. Entérobactérie.....	20
II.7.2.5. Champignon.....	20
II.8. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne.....	20
II.8.1. Aromatogramme.....	20
II.8.2. Technique de diffusion en puits.....	21

# Sommaire

---

II.8.3. Méthode de dilution.....	21
<b>Chapitre III : Matériel et méthode</b>	
III. Matériel et méthode.....	22
III.1. Matériel et réactif utilisés.....	22
III.2. Préparation de la plante.....	22
IV.2.1. Récolte.....	22
III.2.2. Séchage de la matière végétale.....	23
III.2.3. Broyage et tamisage.....	23
III.3. Screening phytochimiques.....	23
III.4. Extraction des huiles essentielles.....	28
III.4.1. Matériel utilisés.....	28
III.4.2. Extraction des huiles.....	28
III.5. Calcul du rendement.....	30
III.6. L'activité antibactérienne.....	30
III.6.1. Choix des souches .....	30
III.6.2. Matériel du laboratoire.....	31
III.6.3. Isolements et conservations des souches.....	31
<b>Chapitre IV : Résultat et discussion</b>	
IV. Résultat et discussion.....	34
IV.1. Interprétation du screening photochimique.....	34
IV.2. Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau florale.....	35
IV.3. Calcul du rendement.....	36
IV.4. Activité Antibactérienne des extraits.....	36
IV.4.1. La Technique de diffusion en puits.....	36
IV.4.2. Aromatogramme.....	37
IV.4.3. Essai avec d'huile essentielle diluée par DMSO du Menthe.....	38
Conclusion	
Références bibliographiques	

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire*

***A** ma très chère mère **Fatiha.**, pour son affection, sa gentillesse, ses précieux conseils et encouragements  
Ton apport à la réalisation de ce travail est inestimable*

***A** mon cher et incomparable père **Ali.**, pour son exceptionnelle affection, sa patience, sa sagesse, et son dévouement*

*Je ne pouvais jamais vous remercier assez pour vos sacrifices, vos souffrances, et vos privations pour nous ;  
et je prie tous les jours que dieu le tout puissant vous donne bonne santé et longue vie*

***A**mes chères sœurs :**Chourouk.***

***Et mes frères : Lotfi, Ilyes. , Rahim et Yacoub.***

***A** tous mes amis De la promotion Master II chimie analytique.*

## **Remerciements**

*Je dédie ce travail réalisé au laboratoire de zootechnique de l'université Chadli Benjedid El-tarf (SNV), à Mademoiselle ZERNIZ N qui m'a invitée à la recherche sur ce sujet, qui m'a dirigée. Je ne peux, en quelques mots, lui exprimer ma reconnaissance pour sa compétence, son encouragement et ses précieux conseils durant le déroulement de ce travail. Qu'elle soit certaine de ma gratitude.*

*Mes remerciements les plus sincères vont à Madame BELAID Soraya de nous avoir son encouragement et ses précieux conseils durant le déroulement de ce travail.*

*Que Monsieur **Boudjema Boughrara** trouve ici l'expression de mes remerciements d'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.*

*Je veux aussi remercier tout les membres de jury qui m'ont fait l'honneur en acceptant de participer à ce jury.*

Nos remerciements s'adressent également spécialement à Madame **DIB Loubna**

*Mes remerciements les plus sincères vont à Monsieur **Tamraoui Mokhtar** de nous avoir accueilli dans son laboratoire.*

*Mes remerciements les plus sincères vont à Madame **REKIOUA Nawal** de nous avoir accueilli dans son laboratoire.*

## Résumé

La menthe spicata est une plante vivace de la famille des lamiacées, c'est une plante riche en substance très recherchées appelées principes actifs : huile essentielle, alcaloïde etc.

Le présent travail a été réalisé au laboratoire zootechnique l'Université El-Chadli Benjedid SNV et laboratoire de phytochimie et de chimie l'Université El-Chadli Benjedid et aussi au laboratoire de polyclinique de MARZOUK IBRAHIM El-Tarf qui s'intitule sur les activités Antibactérienne d'huile essentielle de Menthe.

Des résultats positifs qui confirment la présence de certain nombre de groupes chimiques susceptibles d'activités pharmacologiques a été mise en évidence : Les alcaloïdes, Les saponosides (test de mousse), Les flavonoïdes, Les tannins, Les stérols, Huiles volatiles, Anthocyanes et les Quinones

Par ailleurs, l'huile essentielle de cette plante a présenté un fort pouvoir inhibiteur contre les souches testées avec des concentrations minimales inhibitrices qui varient de 1/2 à 1/32 (v/v).

**Mots clés :** Menthe verte, huiles essentielles, activité antimicrobienne, étude phytochimiques, plante médicinale, principes actifs.

## ملخص

النعناع هو النباتات الدائمة من عائلة النباتات الالمليسيه و هو غني بمواد مهمه جدا تسمى المواد الفعاله القالويات و الزيوت الاساسيه .

تم هذا العمل بمختبر علوم الحيوانات بجامعة الشاذلي بن جديد و مختبر الكيمياء الضوئية والكيمياء

لقد تم تسليط الضوء علي هذه النتائج و من خلالها تبين انه هناك وجود لعدد كبير من هاه العائلات الكيمائية:

قلويدات, سابونيسيدات ( إختبار الرغوة), مركبات الفلافونويد, العفص, ستيروول الزيوت الطيارة, الأنتوسيانين, الكيتونات.

وكذلك في مختبر العيادة المتعددة الخدمات "مرزوق إبراهيم" الطارف الذي يحق له ممارسة الأنشطة المضادة للبكتيريا في

لقد وجدنا انه هناك حساسيه زيت النعناع الأساسي لبعض البكتيريا منها إشيرشيا كولاي والمكورات العنقودية الذهبية

وسيراتيا والفطريات و هذا بعلاقه طرديه مع تراكير زيت النعناع كلما نقص تركز الزيت كلما نقصت حساسيته من زيت

النعناع الاساسي

**الكلمات المفتاحية:** النعناع الأخضر, زيت أساسي, أنشطة مضادة للجراثيم , دراسة كيمياء ضوئية, النباتات الطبية

,المكونات النشطة.

## **Abstract**

Spicata mint is a perennial of the family Lamiaceae, it is a plant rich in very research substance called principle Assets: essential oil alkaloid etc.

The present work was carried out in the zootelcnology laboratory El-Chadli University Benjedid SNV and chemistry laboratory El-Chadli Benjedid University and also in the polyclinic laboratory of MARZOUK IBRAHIM El-Tarf which is entitled to the activities Antibacterial essential oil of Mint essential oil.

Positive results consistent with the presence of a number of chemical groups susceptible to pharmacological activities has been identified: Alkaloids, Saponosides (foam test), Flavonoids, Tannins, Sterols, volatile oils, Anthocyanins and the Quinones  
The sensitivity of the bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia M* and *Enterobacterium*), fungi to the essential oil of Spearmint was studied at different concentrations. At a concentration of 1/32, the essential oil inhibited all bacteria and fungi.

Key words: Spearmint, essential oils, antimicrobial activity, phytochemical study, medicinal plant, active ingredients.

## Liste des Photos

N°	Nom de la photo	Page
Photo 1	Une variété de plante de menthe	8
Photo 2	Hydro distillateur	14
Photo 3	Séchage à l'air libre de plante étudié Menthe	23
Photo 4	Test des alcaloïdes	24
Photo 5	Test des saponosides	24
Photo 6	Test de flavonoïde	25
Photo 7	Test des tanins	25
Photo 8	Test Les cardénolides	26
Photo 9	Test Les stérols	26
Photo 10	Test des huiles volatiles	27
Photo 11	Test des Anthocyane	27
Photo 12	Test des Quinones	28
Photo 13	Méthode d'extraction d'huile essentielle	29
Photo 14	L'extraite d'huile essentielle	29
Photo 15	Suspension des souches bactériennes.	32
Photo 16	dilution d'huile essentielle de Menthe.	33
Photo 17	Incubation d'huile essentielle de Menthe.	33
Photo 18	effet d'huile essentielle diluée par DMSO sur les différentes souches bactériennes par la Technique de diffusion en puits.	37
Photo 19	Effet d'huile essentielle diluée par DMSO sur les différentes souches bactériennes par la Technique de l'Aromatogramme.	37
Photo 20	Histogramme 01 : diamètres de la zone d'inhibition en présence d'huile essentielle diluée par DMSO du Menthe.	39

## Liste des figures

<b>N °</b>	<b>Titre</b>	<b>Pages</b>
Figure 1	La composition d'huile essentielle de menthe	9
Figure 2	Structure de la molécule morphine et la quinine	15
Figure 3	Structure chimique de la Solanine, une saponine rencontrée chez toutes les Solanaceae	15
Figure 4	Structure de base des flavonoïdes	16
Figure 5	Figure 5 : Structure de tanin	16
Figure 6	Structure de la cardénolides digitoxine	16
Figure 7	Numérotation du squelette carboné des stérols d'après la nomenclature de l'I.U.P.A.C	17
Figure 8	la structure de géraniol	17
Figure 9	Structure : 3,5- diglucoside de malvidine	18
Figure10	la structure d'Hypericin	18
Figure11	Technique d'Aromatogramme	21

## Liste des tableaux

<b>N °</b>	<b>Titre</b>	<b>Pages</b>
<b>Tableau I</b>	Liste des matériels et produits utilisées	22
<b>Tableau 2</b>	Les caractéristiques des bactéries	31
<b>Tableau 3</b>	Liste des matériels et produits utilisées (Milieu de culture, réactifs)	31
<b>Tableau 4</b>	Résultat des tests phytochimiques	34
<b>Tableau 5</b>	Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau floral	35
<b>Tableau 6</b>	Diamètres (cm) des zones d'inhibition de l'HE de Menthe	36

## **Symboles et abréviations :**

**HE** : Huile Essentielle

**DMSO** : Diméthylsulfoxyde

**MH** : Muller Hinton

**AFNOR** : Association Française de Normalisation

**OMS** : organisation mondiale de la santé

# Introduction

# Introduction générale

---

## Introduction générale :

Aujourd'hui selon l'organisation mondiale de la santé (OMS) près de 80 % des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales pour le traitement des diverses maladies ont été constatés. [01]

En Algérie l'utilisation des plantes médicinales occupe une place très importante dans la vie de population étant donné la richesse floristique de notre pays. Ainsi la wilaya d'El-tarf est très riche en plantes médicinales, et dont la population locale utilise beaucoup d'entre elles traditionnellement. [01]

Nous avons étudié, en particulier, la plante de menthe qui appartient à la famille des Lamiacées et compte environ 70 espèces dont certaines sont très connues. La menthe est originaire de plusieurs régions : l'Afrique du Nord, l'Asie et l'Europe. Elle est répandue dans le monde entier.

Ce travail a pour objet un screening phytochimique des feuilles de Menthe, une extraction d'huiles essentielles et une évaluation d'activité antibactérienne.

L'huile essentielle extraite des feuilles de Menthe sur différentes souches bactériennes pathogènes tels que : *Escherichia. Coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia M*, Entérobactérie et Champignon.

Notre travail de recherche sera présenté en quatre chapitres :

- ✓ Le premier chapitre porte généralité sur la phytothérapie et les plantes médicinales et l'étude ethnobotanique de menthe.
- ✓ Le deuxième chapitre est consacré à l'étude des huiles essentielles et l'activité antibactérienne l'huile essentielle.
- ✓ Le troisième chapitre comporte les matériels et méthodes qui parleront sur le screening phytochimique puis l'extraction de l'huile essentielle de menthe. Puis l'évaluation d'activité antibactérienne l'huile essentielle.
- ✓ Le quatrième chapitre concerne la partie résultats et discussion.

# Chapitre I : Généralité

## **I.1. La phytothérapie :**

### **I.1.1. Historique :**

Le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile ; rédigé par les sumériens en caractères cunéiformes 3000 ans avant J-C, ils utilisaient des plantes tels que : la menthe, le saule en décoctions filtrées [2]

En Europe, les plantes représentent l'essentiel de la pharmacopée jusqu'à la fin du XIX siècle et l'avènement de la chimie moderne. Encore largement utilisées après la seconde guerre mondiale, elles furent ensuite supplantées par les médicaments de synthèses plus simples d'emploi. [3]

### **I.1.2. Définition :**

La phytothérapie du mot grec « phyton » plante, et « thérapeuein », soigné, constitue l'art de se soigner par les plantes (ou plus précisément la partie active de ces plantes). Elle est une alternative au traitement par les médicaments d'origine chimique. Ses indications sont basées sur l'utilisation traditionnelle des plantes et leurs différentes formes phytothérapeutiques, c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation en voie externe, de produits préparés à partir des plantes, sans passer par une étape de sélection des molécules, on ne consomme pas que le principe actif, mais tout ce que contient la plante.[4]. En générale la plupart des médicaments sont issus des plantes par l'extraction de la partie utilisée (racine, feuille, écorce, fruit,...) et contenant le ou les principes actifs. [5]

### **I.1.3. Types de la phytothérapie et leur principe :**

#### **I.1.3.1. Aromathérapie :**

Est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau. [6]

#### **I.1.3.2. Gemmothérapie :**

Se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radicules. [6]

### **I.1.3.3. Herboristerie :**

Correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale. [6]

### **I.1.3.4. Homéopathie :**

A recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale. [6]

### **I.1.3.5. La phytothérapie chinoise :**

Elle inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Elle vise à modifier les quantités et les actions des différentes énergies de l'organisme. [7]

### **I.1.3.6. La phytothérapie pharmaceutique :**

Elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et par dilution. Cette phytothérapie consiste à se servir de doses suffisamment importantes de végétaux pour avoir une action soutenue et rapide. Les concentrations sont alors élevées, parfois proches de la limite assurant que le médicament n'est pas toxique pour l'organisme. [7]

## **I.1.4. Les avantages et inconvénients de la phytothérapie :**

### **I.1.4.1. Les avantages :**

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria.

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux

# Chapitre I : Généralité

---

infections graves) décroît par rapport à la résistance des bactéries et des virus qui se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. [8]

La phytothérapie est utilisée dans de nombreux domaines, et la minceur en fait partie. On va retrouver de nombreux principes actifs d'origine naturelle dans la composition de compléments alimentaires dont nous détaillerons plus tard les différents mécanismes d'actions. [9]

## **I.1.4.2. Les inconvénients :**

Certaines plantes contiennent des principes actifs qui peuvent être extrêmement puissants, d'autres sont toxiques à faible dose qui provoquent des effets secondaires surtout si elles sont utilisées sans précautions ; donc il est recommandé de n'utiliser une plante que sur les conseils des spécialistes toutefois lorsqu'un traitement à base des plantes est suivi correctement, les risques d'effets secondaires sont fort limités. [8]

De même il ne faut pas utiliser des plantes d'origine douteuse, puisque les facteurs de relation, la cueillette, les méthodes de conservation et de stockage, peuvent altérer les propriétés des plantes. [8]

## **I.2. Les plantes médicinales :**

### **I.2.1. Définition :**

On appelle « plante médicinale » toute plante renfermant une ou plusieurs substances (principe actif) capable de prévenir, soulager, ou guérir des maladies.

Certaines plantes contenant toute une gamme de matières efficaces peuvent avoir une action très différente suivant leur préparation. [10]

Une plante médicinale est une plante dont l'un des organes, par exemple la feuille ou l'écorce possède des vertus curatives et parfois toxiques, selon leurs drogues. Les plantes inscrites à la pharmacopée sont considérées comme des médicaments, leur vente est exclusivement aux pharmaciens et aux herboristes. [11]

# Chapitre I : Généralité

---

Leur efficacité relève de leurs composés, très nombreux et très variés en fonction des espèces, qui sont autant de principes actifs différents.

Exemples : thym, menthe la lavande. [12]

La matière médicale est à l'origine de l'étude de toutes les matières premières

Naturelles à usage médical. Actuellement encore appelée pharmacognosie, elle est le plus souvent limitée aux produits bruts d'origine végétale. [13]

En dehors des plantes strictement médicinales, la matière médicale étudie aussi:

- Les plantes toxiques.
- Certains végétaux alimentaires, comme les plantes à caféine et les épices à propriétés physiologiques marquées, les huiles végétales utilisées en diététique, les fruits riches en vitamines.
- Les plantes à usage surtout industriel, mais ayant quelques applications en Pharmacie: plantes à fibres (cotonnier, chanvre, lin), plantes oléagineuses (Arachide, Ricin, Soja), plantes à parfums (Lavande, Rose, ...etc.). [13]

## **I.2.2. La récolte des plants médicinaux :**

Certaines règles sont à respecter si l'on veut retirer au maximum de bénéfices de vertus thérapeutiques des plantes médicinales.

- La récolte se fait pendant une journée sèche et bien ensoleillé de préférence le matin ou bien le soir.
- Choisir le moment de l'année recommandé pour cueillir la plante médicinale ou ses constituant thérapeutiques sont les plus actifs.
- Il faut se munie de quelques outils indispensables en fonction de la plante que l'on recherche : sécateur, pelle à main, couteau, grattoir, panier ou casier.
- Il faut veiller à choisir des plantes saines, sans maladies ou parasites et vérifier que le sol aux alentours est lui aussi propre et sans pollution.
- Il faut respecter la nature : pas de cueillette surabondante, pas de détérioration inutile.

[14]

### **I.2.3. Le séchage :**

D'une manière, générale le séchage se fait à l'ombre dans un endroit sec et bien ventilé. On peut déposer les feuilles sur une ligne ou sur des papiers et les laisser à l'air libre. [15]. La durée de séchage variée selon la partie utilisée de la plante (fleur, racine tige, feuille). [7]

### **I.2.4. La conservation :**

Les plantes séchées se conservent directement dans un bocal en verre teinté menu d'un couvercle ou bien dans un sac en papier et ne pas conserver dans un sac en plastique. [8]

### **I.2.5. Importance des plantes médicinales :**

Depuis plusieurs années, l'utilisation de plantes médicinales ou de préparations à base de plantes connaît un succès croissant. Il est d'abord intéressant de remarquer que 30% environ des médicaments prescrits par le médecin sont d'origine naturelle, alors que cette proportion est de 50% pour les médicaments en vente libre. [10]

Mais de nombreuses plantes ont effet bénéfique sous forme de tisanes ou d'extraits de plants. Dans le monde, plus de 80% de la population à recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaire. [11]

### **I.2.6. Source des plantes médicinales :**

Les plantes médicinales se trouvent soit à l'état sauvage spontané dit plantent de (cueillette) elles présentent un certain nombre d'inconvénients :

- Dispersion géographique.
- Irrégularité de leur croissance
- Une quantité inégale (au niveau de qualité biochimique, principes actifs).

Ou dans la majorité des cas, les plantes médicinales sont obtenues par la culture. [12] Le mode de reproduction supprime le risque de confusion et peut être organisé afin d'abaisser le cout de production, il permet ainsi l'obtention en quantité le volume de drogue de qualité constante.

La culture des plantes médicinales offre de nombreux avantages :

- Matière première abondante, homogène et de bonne qualité.
- Récolte aisée, souvent mécanique.
- Parfois traitement du matérielle végétale au voisinage des champs de culture évitant l'altération des drogues. [13]

## **I.3. Etude botanique de la Menthe :**

### **I.3.1. Historique :**

La menthe est l'une des plantes médicinales les plus célèbres que l'on connaît depuis le plus longtemps. On a retrouvé en effet des feuilles de menthe séchées vieilles d'environ 3000 ans dans les pyramides égyptiennes. Tandis que les Grecs et les Hébreux s'en parfumaient, les Romains en glissaient dans leur vin et leurs sauces. Au Moyen Âge, on découvre vraiment ses vertus thérapeutiques soit en calmants, antiseptiques ou encore en anesthésiques, puisqu'elle est prescrite aux personnes souffrantes pour anesthésier la douleur. [14]

Le terme « menthe » est apparu dans la langue en 1275. Il vient du latin mentha, qui l'a emprunté au grec minthê. La légende veut que ce fut, à l'origine, le nom de la menthe trouverait ses origines dans la mythologie grecque : Le dieu des enfers Hadès faisait la cour à Mintha, une nymphe du fleuve des enfers, seulement sa femme Perséphone, très jalouse, décida de transformer la belle nymphe en plante. Ne pouvant la ramener à sa forme humaine, Hadès lui donna son odeur si caractéristique. [15]

Originnaire d'Asie et de l'Europe médiévale, la menthe est un aromate connu pour sa prolifération rapide. Libérant un parfum très fort et agréable, elle embaumait les temples grecs et les demeures des Hébreux. Elle éloignait également les puces et assaisonnaient les mets.

La menthe, référencée dans la Bible, était achetée en grande quantité par les hébreux qui en faisaient leur passe-temps favori, au détriment des difficultés sociales et humanitaires soutenues par Jésus. Ses atouts ne s'arrêtent pas là : riche en vitamine C, en fer et en manganèse, elle possède également des vertus antiseptiques notamment des voies respiratoires et se révèle également stimulante et anti -oxydante.

De nos jours, elle est fréquemment utilisée en inhalation pour combattre les rhumes et la toux, en infusion pour favoriser la digestion ou en bain de bouche à base de menthol (l'essence, qu'elle contient), pour rafraîchir l'haleine. [16]

On retrouve un peu partout dans les jardins. Issue de la famille des labiacées, elle existe sous plus de mille variétés à travers le globe. Aussi connue sous des noms tels que sente bon, menthe pouliot ou encore menthe anglaise, elle est employée à différentes fins. Souvent utilisée dans la préparation de plats, la menthe est également considérée comme une plante aux vertus médicinales.

## Chapitre I : Généralité

---

Renfermant tout son arôme, ses feuilles sont généralement les parties qui sont les plus utilisées. Au Maghreb, la plante est employée pour la confection d'une boisson traditionnelle : le thé à la menthe. Sa préparation consiste en une infusion de thé vert et d'une poignée de feuilles de menthe.

La menthe poivrée est la plus utilisée en phytothérapie, pour ses propriétés, connues de la tradition et étudiées scientifiquement.

La menthe est cultivée en France surtout pour fournir l'industrie pharmaceutique, en particulier dans les régions de Milly-la-Forêt et de Chemillé, près d'Angers. Elle contient une forte quantité de menthol, à l'origine de la sensation de fraîcheur ou de froid (car stimulant les mêmes récepteurs que ceux qui dans la bouche sont sensibles au froid). La menthe poivrée contient aussi des terpènes. L'odeur est caractéristique de la saveur camphrée. L'essence de menthe verte est moins soutenue car elle est plus pauvre en menthol, remplacée par la carbone, principe actif du carvi. Par ailleurs, l'huile essentielle de menthe est très utilisée en aromathérapie (surtout la menthe poivrée), en phytothérapie et dans la médecine japonaise (surtout la menthe des champs). Elle ne doit pas être mise en contact avec les muqueuses tant qu'elle n'est pas diluée. [16]

### I.3.2. Nom vernaculaires :

- ✓ Nom vernaculaire : **Naanaa** ( النعناع )
- ✓ Nom scientifique : ***Mentha spicata***
- ✓ Famille : **Lamiaceae**



**Photo 1** : Une variété de plante de menthe [Laguel 2019]

## I.3.3. Description botanique :

C'est une plante aromatique vivace stolonifère. À tige droite, quadrangulaire, rameuse, vert rougeâtre de 60 à 120cm de hauteur, les feuilles sont sessiles lancéolées, ovales dentées, vertes sombres, les fleurs violettes, en épis cylindriques. L'odeur très fine, très aromatique, pénétrante et très intense saveur aromatique, piquante et rafraîchissante [18]

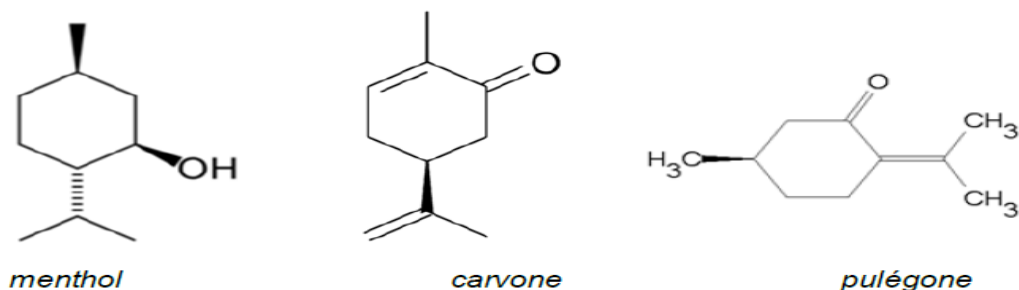
## I.3.4. Classification :

La classification de la menthe pouliot est la suivante.[17]

- **Description:** Plante herbacée vivace de 10-50cm de haut.
- **Ordre :** Lamiales (ou *Labiales*)
- **Saveur:** Chaude, piquante, acre, très aromatique, laissant dans la bouche une impression de fraîcheur agréable.
- **Récolte :** On récolte les sommités juste avant la floraison (fin l'hiver début le printemps), et on le fait sécher à l'ombre. La plante se conserve bien.
- **Partie utilisée :** Feuilles et fleurs.

## I.3.5. Composition chimique :

- L'HE de la menthe contient plus de 10 composés ont été identifiés : Huile essentielle (0,5- 4%), contenant surtout du menthol (35-55%), accompagné de stéréo-isomères comme le (+)- néomenthol (3%) et le (+)- isomenthol (3%), des esters de menthol, surtout l'acétate et l'isovalérianate de menthol, de la menthone (10-35%), du menthofurane. [17]



**Figure 1 :** la composition d'huile essentielle de menthe [01]

### I.3.6. Différentes variétés :

- La menthe est l'une des plantes les plus renommées. Nous la connaissons généralement pour son odeur, ses qualités gustatives et ses bienfaits en phytothérapie.
- Comme d'autres plantes la menthe possède elle aussi de nombreuses variétés. Nous ne pouvons pas aborder toutes les variétés de menthe, je vous propose de nous attarder sur 4 d'entre elles, qui me semblent les plus intéressantes :
  - 1 • Menthe poivrée (*Mentha x piperita*)
  - 2 • Menthe des champs (*Mentha arvensis*)
  - 3 • Menthe pouliot ou Menthe 'Flio' (*Mentha pulegium*)
  - 4 • Menthe verte (*Mentha spicata*)

# **Chapitre II : Les Huiles Essentielles**

## Chapitre II : Les huiles essentielles

---

### II. Les huiles essentielles :

#### II.1. Historique :

L'utilisation des plantes aromatiques et des huiles essentielles en thérapeutique, remonte aux temps les plus anciens.

Chaque fois que, après avoir écrasé un pétale de fleur, une branchette, ou une quelconque partie d'une plante, un parfum se dégage, cela signifie qu'une HE s'est libérée. [19]

En dehors de l'usage local pour les remèdes traditionnels, de la fabrication locale de médicaments essentiels ou de leur exportation vers les industries pharmaceutiques occidentales ou asiatiques, les plantes médicinales sont également Utilisées pour la fabrication de cosmétiques ou celle d'huiles essentielles en aromathérapie [20]

#### II-2. Définition :

Une huile essentielle est un liquide concentré, hydrophobique, qui contient les composés aromatiques volatiles d'une plante. Ces huiles sont obtenues par distillation et doivent être utilisées et diluées dans de l'huile pour les massages ou alors brûlées comme de l'encens.

Ce sont les huiles odorantes extraites des végétaux. On les appelle aussi « essences » ou « essences aromatiques » ou « huile volatile ». Le terme huile essentielle et essence s'appliquent également à des produits synthétiques similaires, préparés à partir des composés issus du godron d'huile, et à des composés semi synthétique obtenus à partir d'huiles essentielles naturelles. [21]

Cependant, l'organisme de normalisation AFNOR (2000) (Association Française de Normalisation) a donné une définition qui prend en compte le mode d'obtention des huiles essentielles : est « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec. Cette définition est cependant restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé. [22]

## Chapitre II : Les huiles essentielles

---

### II-3. Domaines d'utilisations des huiles essentielles :

Les huiles essentielles sont utilisées comme condiments, aromates ou épices. C'est le cas des essences de gingembre, de girofle, de vanille, de basilic, de poivre, de citrus, les HE extraites de citrus, par exemple, trouvent leur utilisation dans la confiserie, les sirops, les biscuiteries. On note leur intégration aussi dans les boissons, les produits laitiers, les soupes, les sauces, les snacks, les boulangeries ainsi que la nutrition animale. [23]

- Les propriétés pharmacologiques des HE leur confèrent un pouvoir antiseptique contre les bactéries, champignons et levures, en plus des propriétés bactériostatiques, bactéricides, vermicide, fongicides, antiseptiques, insecticides. Les HE de thym, girofle, lavande, eucalyptus. Le thymol, constituant principal de l'huile essentielles de thym, est 20 fois plus antiseptique que le phénol. [23,24]

- Des propriétés spasmolytique et sédatives : Certaines drogues à HE (menthe, verveine) sont réputées efficaces pour diminuer les spasmes gastro-intestinaux.

- Des propriétés irritantes : De nombreuses crèmes, pommades à base de d'HE sont destinées à soulager entorses, courbatures ou claquages musculaires, certaines HE

Utilise fréquemment les huiles essentielles. La cosmétique est le secteur des produits d'hygiène naturels et synthétiques pour consommateurs. Elles sont intégrées dans des analgésiques pour la peau, les produits solaires. [24]

Ce sont surtout des industries chimiques qui utilisent des isolats (substances pures isolées des HE) comme premières pour la synthèse de principes actifs médicamenteux, de vitamine, de substances odorantes, etc.... [25]

Citons ainsi l'utilisation des isolats linalool. D-limonène dans des shampoings et sprays insecticides pour les chats et les chiens.

### II.4. Extraction des huiles essentielles :

Les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte des caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisant une forte demande toujours plus exigeante.

Une huile essentielle est un extrait odorant d'origine végétale obtenu soit par expression (ou pressage) soit par : [26]

## Chapitre II : Les huiles essentielles

---

- Entraînement à la vapeur d'eau.
- L'hydro diffusion.
- L'hydrodistillation.
- Expression à froid.
- L'extraction par solvants volatils.
- Extraction par CO<sub>2</sub> super critique.
- Extraction assistée par micro-onde

De nos jours, pour des raisons Les huiles essentielles des plantes récoltées ont été extraites par hydrodistillation en utilisant un appareil de type Clevenger, en raison de sa disponibilité au laboratoire et de sa fiabilité.

### II.4.1. L'hydrodistillation :

L'hydrodistillation (HD) est la méthode la plus couramment employée pour l'extraction d'une huile essentielle. Dans son principe, elle correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière végétale dans un bain d'eau ; l'ensemble est ensuite porté à ébullition, à pression atmosphérique. Sous l'effet de la chaleur, les molécules odorantes contenues dans les glandes sécrétrices des végétaux sont libérées sous forme d'un mélange azéotropique. Bien que la plupart des constituants aient des températures d'ébullition supérieures à 100°C, ils sont entraînés mécaniquement avec la vapeur d'eau. Le refroidissement par condensation conduit à la séparation du mélange eau-huile essentielle par décantation. Le système « Clevenger », préconisé par la pharmacopée européenne permet le recyclage de la phase aqueuse du distillat dans le bouilleur par cohobage. Ainsi, l'eau et les molécules volatiles sont séparées, par leurs différences de densité, dans l'essencier en une phase aqueuse (hydrolat) et une phase organique surnageant (huile essentielle). [27]



**Photo 2 :** hydro-distillateur [laguel 2019]

### **II.5. Screening phytochimiques :**

#### **II .5.1. Introduction :**

Les végétaux supérieurs ont la capacité de synthétiser, par des voies métaboliques complexes, de nombreux composés qu'ils utilisent pour diverses fonctions adaptatives notamment en réponse aux stress biotiques et abiotiques qu'ils peuvent subir. Les plantes renferment donc une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques (antimicrobienne, antioxydante cicatrisante...). Il est par ailleurs aujourd'hui reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives.

Pour être valorisés, les composés bioactifs doivent d'abord être séparés de leur matrice végétale d'origine. L'obtention de ces molécules nécessite des nombreuses étapes souvent longues et coûteuses [28].

#### **II .5.2. Définition du Screening phytochimiques :**

Est un ensemble des méthodes et techniques de préparation et d'analyse des substances organique naturelles de la plante. [28] Sont des tests préliminaires pour identifier le principe actif de la plante, au bien un ensemble des réactions de caractérisation des différentes classe des composés chimiques: les flavonoïdes, les alcaloïdes, saponosides... par contre, le

## Chapitre II : Les huiles essentielles

screening phytochimiques il ne permet pas d'identification ou de déterminer la structure chimique des composés présents. [29]

### II.5.2.1. Les alcaloïdes :

Sont des substances organiques azotées et basiques, généralement hétérocycliques, d'origine végétale dotées de propriétés physiologiques remarquables (toxiques ou thérapeutiques).

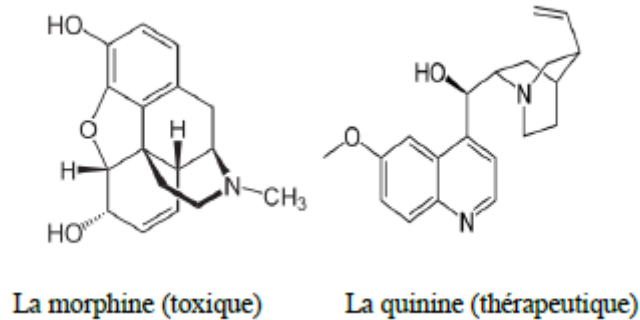


Figure 2 : Structure de la molécule morphine et la quinine [29]

### II.5.2.2. Les saponosides (test de mousse) :

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal [29], structurellement les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine tri terpénique.

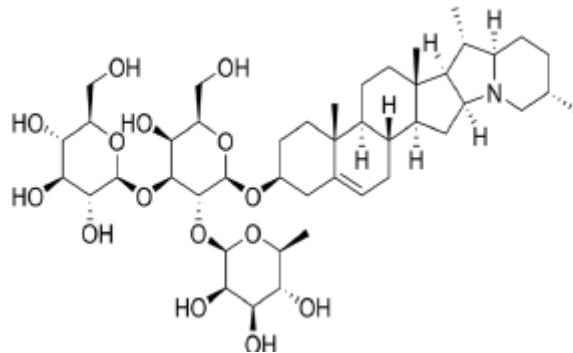
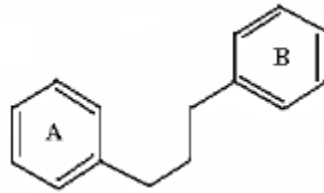


Figure 3 : Structure chimique de la Solanine, une saponine rencontrée chez toutes les Solanaceae [29]

II.5.2.3. Les flavonoïdes : les flavonoïdes désignent une très large gamme des composés naturels appartenant à la famille des poly phénols, au bien sont des substances très répandues dans le règne végétal. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait

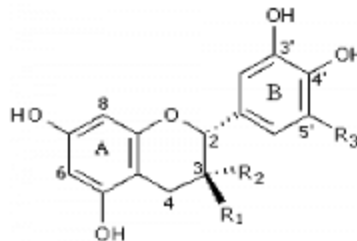
## Chapitre II : Les huiles essentielles

présentent le même élément structural de base à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles.



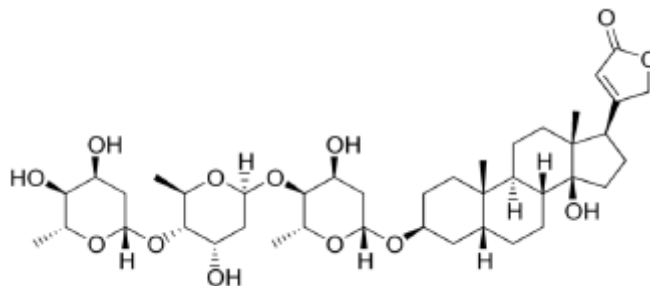
**Figure 4 :** Structure de base des flavonoïdes [29]

**II.5.2.4. Les tanins :** les tanins, ou acides tanniques sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes à des concentrations diverses. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable et le rend immangeables pour le bétail. Les tanins peuvent former des complexes indestructibles avec certains tissus corporels- comme la peau- ce qui permet de les resserrer. En conséquence, ces substances peuvent être utilisées pour tanner le cuir ou encore à des fins thérapeutiques pour traiter la diarrhée ou les irritations cutanées.



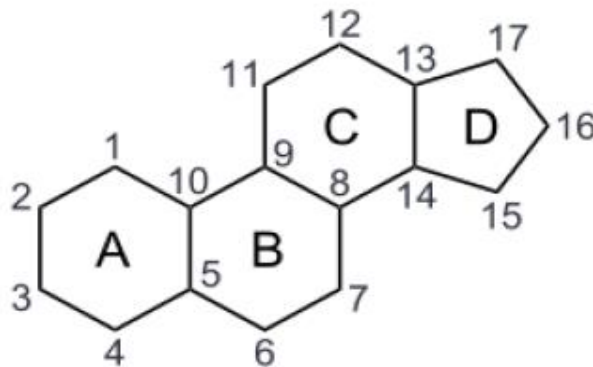
**Figure 5 :** Structure de tanins [29]

**II.5.2.5. Les cardénolides :** sont des composés chimiques appartenant au groupe des hétérosides cardiotoniques. Cette famille chimique est connue depuis de nombreuses années, notamment grâce aux digitaliques. L'utilisation de ces composées a débuté par la découverte des vertus thérapeutiques des plantes à hétérosides comme la digitale.



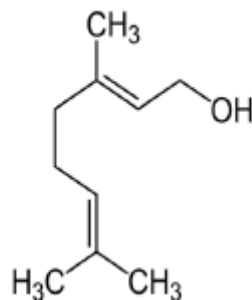
**Figure 6 :** Structure de la cardénolides digitoxine [29]

**II.5.2.6. Les stérols** : sont des lipides neutres possédant une structure rigide, ce sont également des molécules amphiphiles. La structure spatiale d'un stérol et la numérotation du squelette carboné sont présentées en Fig.8, les stérols sont composés de 4 cycles hydrocarbonés nommés A, B, C et D qui forment une structure plane et rigide de nature apolaire.



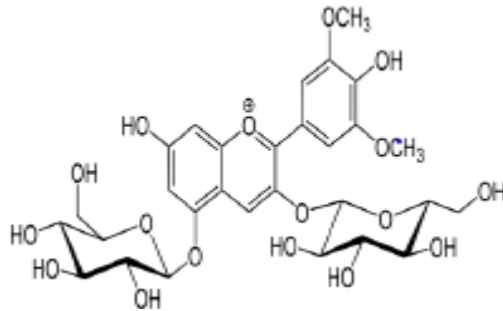
**Figure 7** : Numérotation du squelette carboné des stérols [29]

**II.5.2.7. Les huiles essentielles** : H.E appelées aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les branches, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal. Elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air.



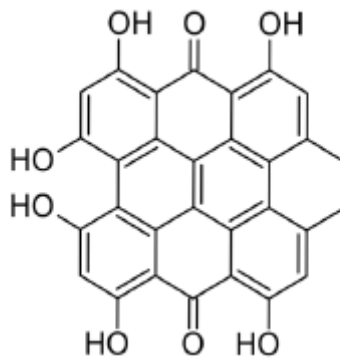
**Figure 8** : la structure de géraniol [29]

**II.5.2.8. Les anthocyanes** : sont subissent des transformations structurales réversibles avec le changement de PH, manifestées par des spectres d'absorption différents. La forme colorée (oxonium) prédomine à PH=1,0 et la forme incolore (hémicétal) à PH=4, 5. La méthode du différentiel de PH est basée sur cette réaction et permet une mesure rapide et précise des anthocyanes totaux.



**Figure 9 :** Structure 3,5- diglucoside de malvidine [29]

**II.5.2.9. Les quinones libres:** sont des molécules très réactives, à noyaux aromatique, avec deux substitutions cétoniques, les quinones sont des composés qui régénèrent des radicaux libres et par conséquent, se complexant irréversiblement aux acides aminés nucléophiles des protéines, les quinones sont ubiquitaires et possèdent généralement des propriétés antimicrobiennes.



**Figure 10 :** la structure d'Hypericin [29]

### II.6. Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisées sans risque.

Certaines sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau, en raison de leur pouvoir irritant (les huiles riches en thymol, ou en caravacol), allergène (huile riche en cinnamaldéhyde) ou photo-toxique (huile de citrus contenant des coumarines), d'autre ont un effet neurotoxique (les cétones comme le toniques pour les tissus nerveux). [26]

### **II.7. Activité antibactérienne :**

#### **II.7.1. Généralités sur les bactéries :**

L'Homme vit dans un environnement peuplé de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et sur les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ce sont soit des hôtes naturels de l'Homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc pathogènes.

Les bactériens assurent à la surface du globe, sur le sol et dans les eaux d'innombrables fonctions; elles exercent des actions bénéfiques, mais d'autres peuvent provoquer des infections chez les plantes, les animaux et également chez l'Homme.

#### **II.7.2. Les souches bactériennes :**

##### **II.7.2.1. Staphylococcus aureus :**

Les staphylocoques sont des bactéries (Gram positif) qui tendent à se grouper en amas irrégulier à la façon d'une grappe de raisin.

Staphylococcus aureus est un germe aérobie- anaérobie facultatif, doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Il tient une place très importante dans les infections communautaires et nosocomiales.

##### **II.7.2.2. Escherichia coli**

Appelée également colibacille (Gram négatif), c'est l'espèce dominante de la flore intestinale des mammifères (80%), très commune chez l'être humain. Escherichia coli est habituellement une bactérie commensale. Elle peut devenir pathogène si les défenses de l'hôte se trouvent affaiblies ou si elle acquiert des facteurs de virulence particuliers et entraînent alors des gastro-entérites, infections urinaires, méningites. [27]

##### **II.7.2.3. Serratia M**

Les Serratia M sont des bactéries Gram négatif qui appartiennent à la famille des Enterobacteriaceae (la plus connue de ces bactéries est la Serratia marcescens). Elle se retrouvent sur divers végétaux (champignon, mousse, légumes), dans le sol, l'eau ainsi que dans le système digestif de certains insectes et rongeurs. Quoique rarement responsables de pathologies, les Serratiae peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales (caractérisées au

## Chapitre II : Les huiles essentielles

---

cours d'une hospitalisation) telles que des infections urinaires, voire des endocardites ou des septicémies. [31]

### II.7.2.4. Entérobactérie

Les Entérobactérie sont des bacilles gram négatif retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux. Ils constituent l'une des plus importantes familles de bactérie, autant du point de vue quantitatif que point de vue qualitatif.

### II.7.2.5. Champignon

Sont des eucaryotes pluricellulaires ou unicellulaires. Le terme « champignon » est devenu ambigu car il désigne un taxon obsolète. Ce terme englobe à la fois les **Fungi** ou **mycètes**, les oomycètes, les chytridiomycètes et les mycétozoaires. [32]

Les champignon, ou plus justement les mycètes, regroupent de nombreuses espèces, formant ensemble l'un des cinq règnes du vivant. [33]

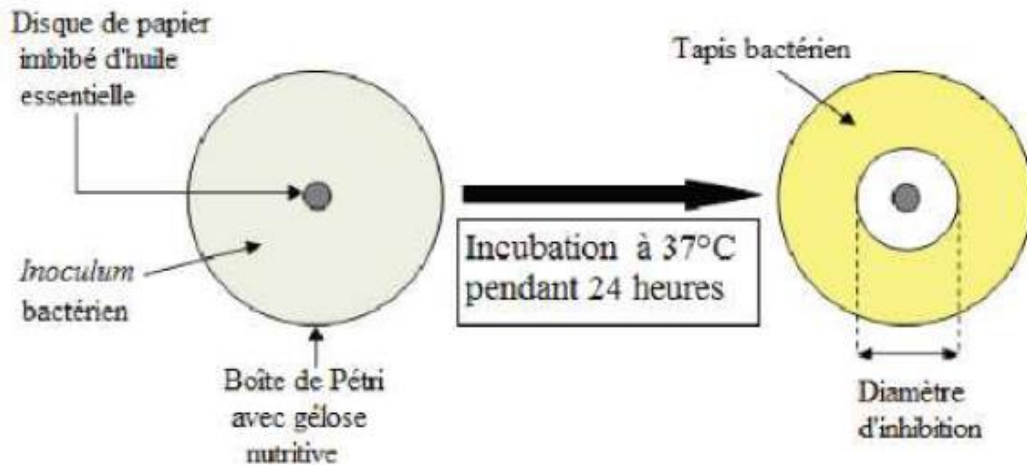
## II.8. Méthodes de détermination de l'activité antibactérienne

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antibactérien des huiles essentielles a une grande influence sur les résultats. Le choix de la méthode est conditionné par l'insolubilité des huiles essentielles dans les milieux aqueux, leur volatilité, et la nécessité de les tester à de faibles concentrations.

### II.8.1. Aromatogramme

C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des huiles essentielles.

Cet examen est équivalent à un antibiogramme où les antibiotiques sont remplacés par des essences préalablement sélectionnées et reconnues. Il s'agit d'une méthode en milieu gélosé à l'agar réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier (de cellulose) de 6 mm sur lequel on dispose une quantité donnée d'huile essentielle (10µl). Après ensemencement et incubation, on mesure le diamètre des zones d'inhibition. [14]



**Figure 11 :** Technique d'Aromatogramme.[14]

### II.8.2. Technique de diffusion en puits :

Un puits (d'environ 6mm) est creusé au centre de la gélose dans lequel sera coulée une quantité d'huile essentielle pure ou diluée. Après incubation, des zones d'inhibition décroissance bactérienne sont obtenues (pour les huiles actives) et mesurées (127).

Pour ces 2 techniques, la sensibilité du germe testé peut être évaluée selon le diamètre d'inhibition obtenu. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égale à 20 mm le germe est très sensible. [14]

### II.8.3. Méthode de dilution :

Les huiles essentielles à tester peuvent également être directement mélangées en concentration connue au milieu de culture, qu'il soit solide ou liquide (exige la dispersion homogène par un émulsifiant). Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes, après incubation, on note la présence ou l'absence de culture. La lecture peut-être visuelle ou à l'aide d'un spectrophotomètre, le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu.

# **Chapitre III : Matériel et Méthode**

## Chapitre III : Matériel et Méthode

### III. Matériel et Méthode :

Notre travail consiste à déterminer les testes phytochimiques, l'extraction d'huile essentielle et antibactérienne de l'huile essentielle de menthe aromatique et médicinale de la famille des lamiacées. Pour cela, nous avons réalisé une récolte de ces plantes, puis une extraction de leurs huiles essentielles par hydrodistillation en utilisant un hydro-distillateur de type **Clevenger**.

#### III.1. Matériel et réactif utilisés :

**Tableau 1** : Liste des matériels et produits utilisés.

Matériel	Réactif
Tubes à essais	Eau distillée
Erlenmayer	HCL diluée à 1% et 5%
Fioles	NH <sub>4</sub> OH
Entonnoir	MeOH à 80%
Papier filtre	Fe Cl <sub>3</sub> à 1%
Plaque chauffante	NaOH diluée à 1 %
Balance	CHCl <sub>3</sub>
Bécher	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Pissette	CH <sub>3</sub> COOH
Spatule	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
	Réactif de Mayer

#### III.2. Préparation de la plante :

##### III.2.1. Récolte :

La **récolte** de plante de la Menthe (lamiacées) a été effectuée au mois Janvier de la région d'El Frine EL-TARF.

Une quantité avoisinante les 5kg de Menthe a été cueillie de bon matin, c'est le moment où l'huile essentielle est optimale. Le sol où cette plante était cultivée est de type argilo-limoneux de nature alcaline.

## Chapitre III : Matériel et Méthode

---

### III.2.2. Séchage de la matière végétale :

Le plante récoltée ont été séchée au laboratoire de biologie végétale, à l'air libre et à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant environ 15 jours.

### III.2.3. Broyage et tamisage : l'obtention d'une poudre fine et homogène



**Photo 3 :** Séchage à l'air libre de plante étudié Menthe [Iaguel 2019]

### III.3. Screening phytochimiques :

Le screening chimique est une méthode d'analyse qui a pour but de mettre en évidence les groupes photochimiques contenus dans une plante.

#### 1. Les alcaloïdes :

Macérer 1g de la poudre de la feuille dans 10ml d'HCl à 5% dans un récipient. On filtre le mélange on additionner ou filtrat quelque gouttes de réactif de Mayer.



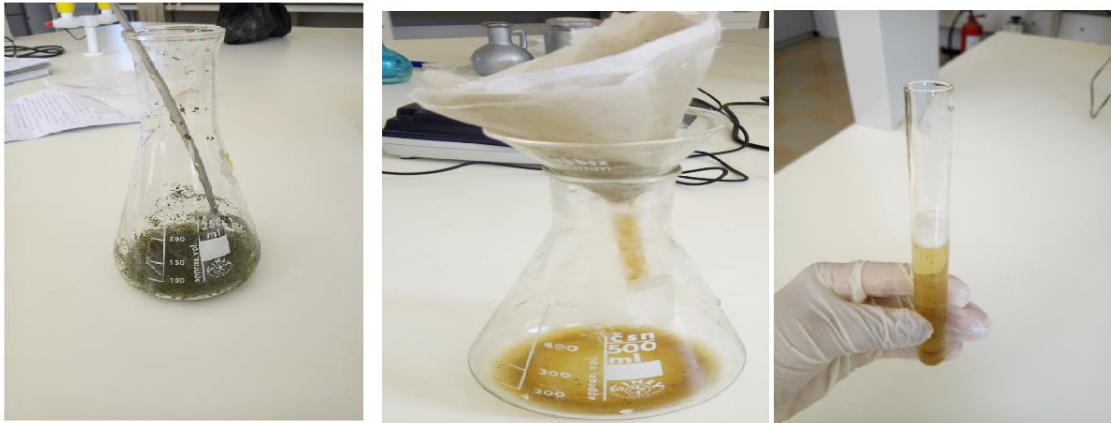
**Photo 4 : Test des alcaloïdes [Laguel 2019]**

### **2. Les saponosides (test de mousse)**

1g de la poudre sèche est pesé dans une fiole dans laquelle 10ml d'eau distillée sont ajoutés et bouillis pendant 5min, le mélange est filtré.

2,5ml du filtrat sont ajoutés à 10ml d'eau distillée dans un tube à essai.

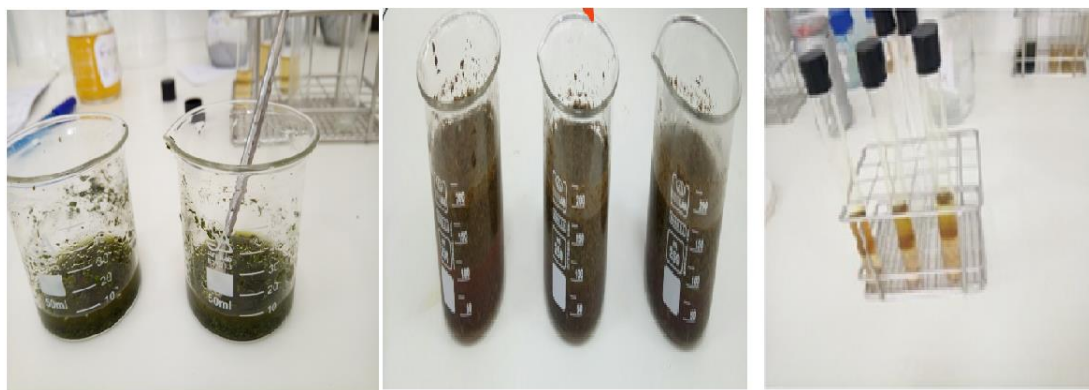
Le tube est secoué vigoureusement pendant 30s puis on laisse reposer une demi-heure.



**Photo 5 : Test des saponosides [Laguel 2019]**

### **3. Les flavonoïdes :**

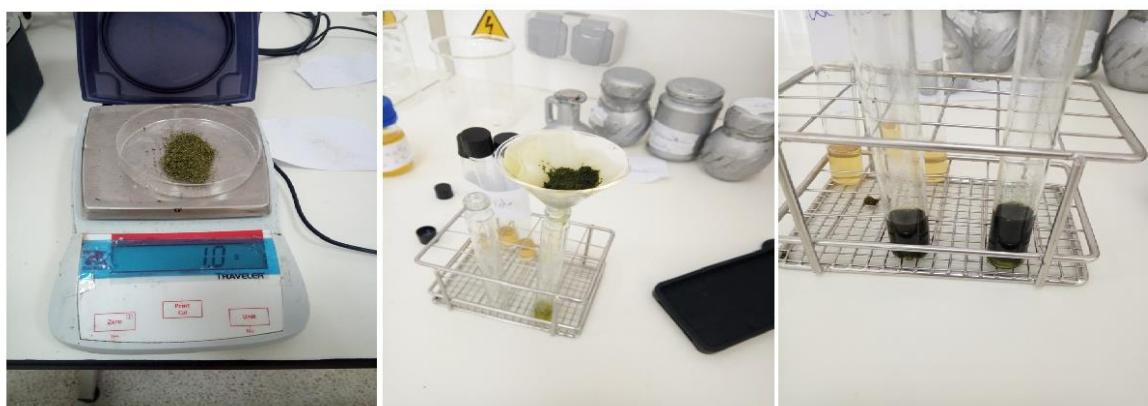
Macérer 10g de la poudre de feuille dans 150ml HCl à 1% pendant 24h. Filtrer, prendre 10ml du filtrat, le rendre basique avec  $\text{NH}_4\text{OH}$ .



**Photo 6 : Test de flavonoïde [Laguel 2019]**

#### 4. Les tannins

10g de la feuille avec 100ml de MeOH à 80%.filtré, additionner au filtrat quelques gouttes d'une solution de  $\text{FeCl}_3$  à 1%



**Photo 7: Test des tanins [Laguel 2019]**

#### 5. Les cardénolides :

Macérer 1g de poudre sèche dans 20ml d'eau distillée pendant 3h, après filtration, on prélève 10ml de filtrat et on l'extrait avec un mélange de 10ml de chloroforme  $\text{CHCl}_3$  et éthanol  $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ . On évapore la phase organique, puis dissout le précipité dans 3ml de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  glacial, en ajoutant quelque goutte de  $\text{FeCl}_3$  et 1ml de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentré sur les parois du tube à essai.



**Photo 8 : Test Les cardénolides [Laguel 2019]**

### 6. Les stérols

Macérer 1g de poudre sèche dans 20ml d'éther pendant 24h. Filtrer puis évaporer. Le résidu obtenu est dissous dans l'anhydride acétique. L'addition d'acide sulfurique pur développe en présence des produits stéroluque.



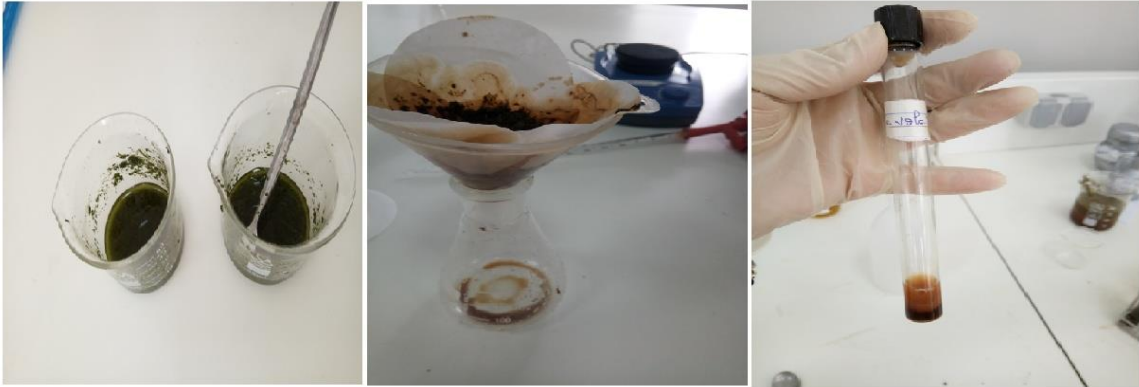
**Photo 9 : Test Les stérols [Laguel 2019]**

### 7. Les huiles volatiles :

Macérer 10g de la poudre dans 40ml d'eau distillée avec agitation constante 30mn.

L'extrait est filtré.

2 ml du filtrat sont secoués avec 0,1ml de NaOH dilué et une petite quantité de HCl dilué un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles.



**Photo 10 :** Test des huiles volatiles [Laguel 2019]

### 8. Anthocyanes

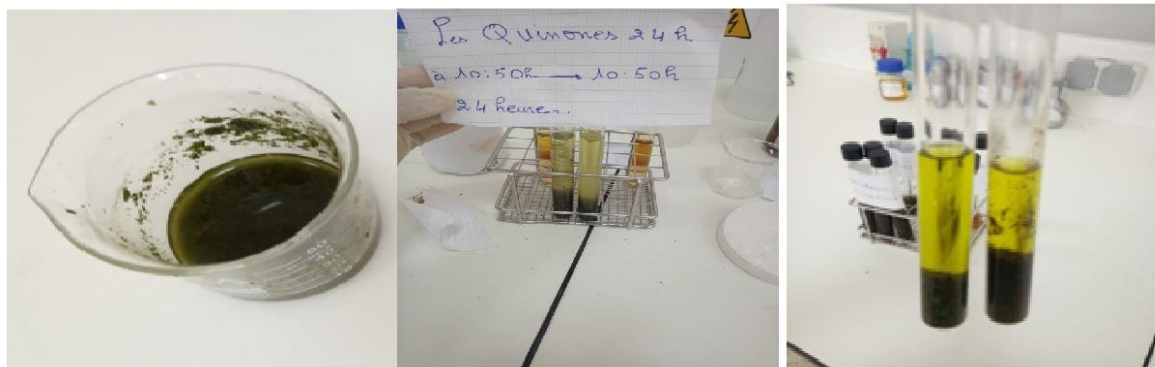
Repose sur le changement de couleur de l'infusé à 10% avec changement de PH. On ajoute à l'infusé quelque goutte de HCl pur, on a changement de couleur, puis on rajoute quelque goutte de  $\text{NH}_4\text{OH}$  changement de couleur.



**Photo 11:** Test des Anthocyanes [Laguel 2019]

### 9. Quinones

1g de poudre broyé est placé dans un tube avec 15 à 30ml d'éther de pétrole. Après agitation et un repos de 24h. L'extrait est filtré puis concentré au Rotavapeur. La présence des quinones est confirmée par l'ajout de quelque goutte de NaOH.



**Photo 12 : Test des Quinones [Laguel 2019].**

### III.4.Extraction d'huile essentielle :

#### III.4.1. Matériel utilisés

Pour la réalisation de l'extraction des huiles essentielles des plantes étudiées, plusieurs types de matériel ont été utilisés :

- Hydro-distillateur de type Clevenger pour l'extraction des huiles essentielles.
- Balance à affichage électronique pour les pesées de la matière végétale.
- Micropipette (0-10  $\mu$ l) pour un pipetage de précision des huiles essentielles
- Eppendorfs utilisés pour la conservation des huiles essentielles.
- Erlenmayer (250ml)
- Becher (400ml)
- Fiole jaugée (250ml)
- Ballon à fond rond (500ml).
- Agitateur magnétique.
- Réfrigèrent à reflux

#### III.4.2.Extraction des huiles :

Cette étape a eu lieu au niveau du laboratoire de l'université de Chadli Benjedid El-tarf SNV. Dans notre étude nous avons utilisé la méthode d'extraction par l'hydro-distillateur car elle possède plusieurs avantages tel que : la rapidité de l'opération ; l'obtention de meilleurs rendements

## Chapitre III : Matériel et Méthode

Afin d'extraire l'huile essentielle de notre plante étudiées, nous avons réalisé les étapes ci-dessous :

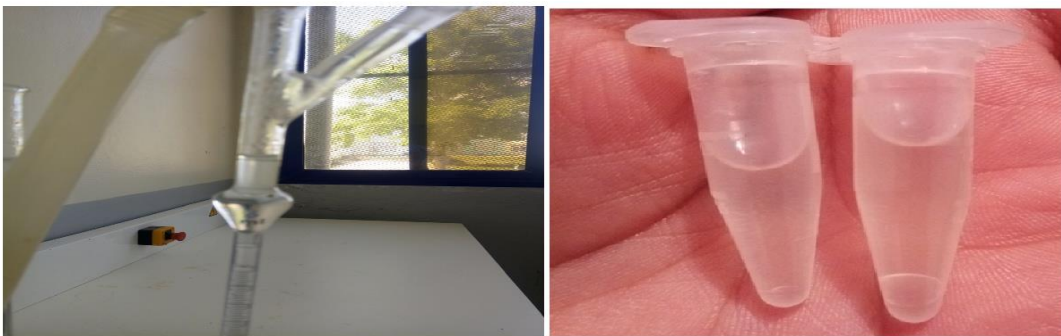
- Peser une quantité de **100g** de notre échantillon dans une balance électronique en prenant de menthe verte (sans les tiges) (feuilles,) (**Photo14**).
- Rincer le pilon et le mortier, mettre les eaux de rinçage dans le ballon ainsi que le restant d'eau distillée.
- Ajouter 3 ou 4 grains de pierre ponce.
- Sous l'effet de la chaleur, les cellules renfermant les substances odorantes éclatent (décoction).



**Photo 13** : Méthode d'extraction d'huile essentielle [Laguel 2019]

Dès l'apparition des premières gouttes de vapeur on diminue la température à 70°C afin d'éviter que le matériel végétale se dessèche.

Après environ deux heures, l'huile essentielle a été récupérée dans des éppindorfs (**Photo14**).



**Photo 14** : L'extraite d'huile essentielle [Laguel 2019]

## Chapitre III : Matériel et Méthode

---

Nous avons procédé ainsi pour les trois manipulations, jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante pour entamer les analyses antibactérienne de ces huiles.

### III.5. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue après l'extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Le rendement (R) est exprimé en pourcentage, et il est donné par la formule suivante :

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100$$

$R_{HE}$  : rendement en huile essentielle (%)

$M_{HE}$  : masse de l'huile essentielle (g)

$M_{MV}$  : masse de la matière végétale (g)

### III.6. L'activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle sur cinq souches bactériennes pathologiques est réalisée au laboratoire de la polyclinique « Merzougue Ibrahim » El-Tarf et laboratoire zootechnique d'Université de Chadli Benjedid El-Tarf SNV.

#### III.6.1. Choix des souches :

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de la menthe a été évaluée sur cinq souches bactériennes de la famille des Entérobactérie d'origine hospitalière, proviennent des laboratoires.

## Chapitre III : Matériel et Méthode

**Tableau 2 :** Les caractéristiques des bactéries.

<b>Souches bactériennes</b>	<b>Gram</b>	<b>Mobilité</b>	<b>Type respiratoire</b>
Staphylococcus aureus	+	Immobiles	Aéro-anaérobie
Escherichia coli	-	Mobiles	Aéro-anaérobie
Serratia M	-	Mobiles	Anaérobie facultative
Entérobactérie	-	Immobiles ou Mobiles	Aéro-anaérobie
Champignon	+	Immobiles	Aérobie facultative

### III.6.2. Matériel du laboratoire :

**Tableau 3:** Liste des matériels et produits utilisées (Milieu de culture, réactifs).

<b>Produits</b>	<b>Appareillage</b>
Gélose Mueller-Hinton Diméthylsufoxyde DMSO Eau physiologique	Autoclave, Bain marie, Pipettes pasteur Balance électrique, étuve, écouvillon. Réfrigérateur, Boite de pétri, Anses de platine,

### III.6.3. Isolements et conservations des souches :

Le contrôle de pureté de souches bactériennes a été fait par ré-isolément de chacune des souches utilisées sur le milieu d'isolement spécifique.



**Photo 15 :** Suspension des souches bactériennes [Laguel 2019]

➤ **Préparation de milieu de culture Muller Hinton (MH) :**

C'est une gélose standardisée permet de tester l'action des huiles essentielles sur les bactéries et la croissance de plusieurs bactéries.

- Mélanger 38g de la poudre de Muller Hinton dans 1000 ml d'eau distillées.
- Agiter la solution pour l'homogénéiser par un agitateur à une température élevée.
- Mettre la gélose dans des flacons.
- Mettre ces flacons dans autoclave à une température de 100 pendant 15 à 20 min.
- Faire ressortir de la gélose de l'autoclave et attendre quelque minutes jusqu'à solidification de milieu.

➤ **Préparation des dilutions :**

Cette technique consiste à diluer l'huile essentielle à inoculer avec les souches testées. Chaque extrait obtenu subit une série de dilutions successives dans des tubes stériles contenant un volume bien déterminé de DMSO, en ajoutant une quantité bien définie de huile de façon a avoir des dilutions de 75%, 50% , et 25% .

## Chapitre III : Matériel et Méthode



**Figure 16** : dilution d'huile essentielle de Menthe. [Laguel 2019]

➤ **Incubation :**

Mettre les boîtes de pétri dans l'étuve à une température de 37 C° pendant 24h.

➤ **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 de coulisse (**cm**) et sont symbolisés par des d'après la sensibilité des souches vis-à-vis de huile.

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



**Photo 17** : Incubation d'huile essentielle de Menthe. [Laguel 2019]

# **Chapitre IV : Résultat et discussion**

## Chapitre IV : Résultat et discussion

### IV. Résultat et discussion :

#### IV.1. Interprétation du screening photochimique :

Les screening photochimiques ont été réalisés sur *Menthe* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique. Les résultats expérimentaux du criblage photochimique sont mentionnés dans le **tableau 4**.

**Tableau 4** : Résultat des tests phytochimiques.

Principe active	Réactive	Couleur	Résultat
Les alcaloïdes	HCl+réactif de Mayer	blanc jaunâtre	+
Les saponosides (test de mousse)	Décoction eau distillé	Une mousse alvéolaire	+
Les flavonoïdes	HCl+NH <sub>4</sub> OH	jaune claire dans la partie supérieure du tube	+
Les tannins	FeCl <sub>3</sub>	bleu ou vert indique	+
Les cardénolides	CHCl <sub>3</sub> , C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	couleur vert-bleu	-
Les stérols	Ether, Anhydride acétique	mauve vire ou vert	+
Huiles volatiles	NaOH+HCl	un précipité blanc est formé avec les huiles volatiles	+
Anthocyanes	HCl+NH <sub>4</sub> OH	changement de couleur,	+
Quinones	Ether de pétrole, NaOH	la phase aqueuse vire au jaune rouge ou violet.	+

**+ : présence / - : absence.**

Le test phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de principes actifs au niveau des tissus végétaux de notre plante : les tanins, les anthocyanes, les

## Chapitre IV : Résultat et discussion

saponosides, les flavonoïdes et les terpènes. Cependant, les tests se sont révélés négatifs pour les cardénolides.

Les tests phytochimiques réalisés sur *M. pulegium* du Maroc par Zekri et al.[34] ont montré la présence des mêmes constituants chimiques détectés dans la plante étudiée.

La présence de ces principes actifs au niveau de notre plante étudiée explique leur fort pouvoir thérapeutique. Par conséquent, ces résultats justifient la large utilisation de cette plante dans la médecine traditionnelle par la population locale. Effectivement, les tanins, les anthocyanes, les flavonoïdes, les saponosides et les terpènes et stérols possèdent plusieurs propriétés bénéfiques notamment antimicrobiennes, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antiulcéreuses et bien d'autres [35]

La différence de la composition chimique des plantes étudiées, et des mêmes plantes dans une autre région ; explique qu'il y a des facteurs influençant sur la présence, l'absence et la répartition des différents principes actifs comme, le climat, la nature du sol, eau, altitude... etc.

Ces résultats nous ont permis de nous orienter vers l'extraction et l'étude des huiles essentielles.

### IV.2.Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau florale :

L'huile essentielle de Menthe est extraite par la technique d'hydrodistillation (**type Clevenger**) a l'aspect d'un liquide d'une coloration **Jaune pâle** claire est **une odeur fort** les résultats obtenu on **huile essentielle et eau florale** sont représenté dans le tableau suivant :

**Tableau 5** : Caractérisation organoleptique en huile essentielle et eau floral

<b>Matière sèche</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>	<b>aspect</b>
<b>Huile essentielle</b>	Jaune pâle	Forte odeur menthe	Liquide limpide
<b>Eau florale</b>	Blanc jaunâtre	Forte odeur	Liquide

Les paramètres **organoleptique en huile essentielle** sont conformes avec ceux représentés dans les normes (AFNOR) [36]

### IV.3. Calcul du rendement :

On a obtenu un rendement en huiles essentielles de 1.24% pour le Menthe représentant un rendement normal compares avec les normes AFNOR qui est détermine entre (0,5-2) [03][38]. Cela peut être due aux différents facteurs qui rentrent en jeu, parmi eux on cite la nature du sol, la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction. [37]

Le menthol et le menthone posséder une teneur en huile essentielle très faible, pour cela on note un rendement qui ne dépasse pas 3%. [39]

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_{MV}) \times 100$$

$$R_{HE} = (1.24 / 100) \times 100$$

$$R_{HE} = 1.24\%$$

### IV.4. Activité antibactérienne des extraits :

L'activité antibactérienne des extraits du Menthe a été testée par la méthode de l'aromatogramme et la Technique de diffusion en puits. Les diamètres d'inhibition ont été déterminés en exposant les souches aux extraits purs et l'extrait aqueux de l'HE de menthe de la région d'El-Frine a été évalué sur 5 espèces bactériennes (dont trois Gram (-) et deux Gram (+)) provenant du laboratoire de recherche de l'Université El-Chadli Benjedid SNV et aussi au laboratoire de polyclinique de MARZOUK IBRAHIM.

#### IV.4.1. La Technique de diffusion en puits :

Les résultats du pouvoir antibactérienne de l'huile essentielle de Menthe a des dilutions en série successives de la solution mère obtenue pour huile essentielle testée sont préparées dans un milieu de culture stérile (gélose), de façon à obtenir successivement les dilutions : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256, 1/512.



*Escherichia coli*

*Staphylococcus aureus*

**Photo 18** : effet d'huile essentielle diluée par DMSO sur les différentes souches bactériennes par la Technique de diffusion en puits. [Laguel amina 2019]

### IV.4.2. Aromatogramme :

Les résultats du pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de Menthe à des dilutions en série successives de la solution mère obtenue pour l'huile essentielle testée sont préparées dans un milieu de culture stérile (gélose), de façon à obtenir successivement les dilutions : 1/2, 1/4, 1/8.



*Serratia M*

*Entérobactérie*

| *Champignon*

**Photo 19** : effet d'huile essentielle diluée par DMSO sur les différentes souches bactériennes par la Technique de l'Aromatogramme. [Laguel amina 2019]

## Chapitre IV : Résultat et discussion

### IV.4.3. Essai avec d'huile essentielle diluée par DMSO de Menthe :

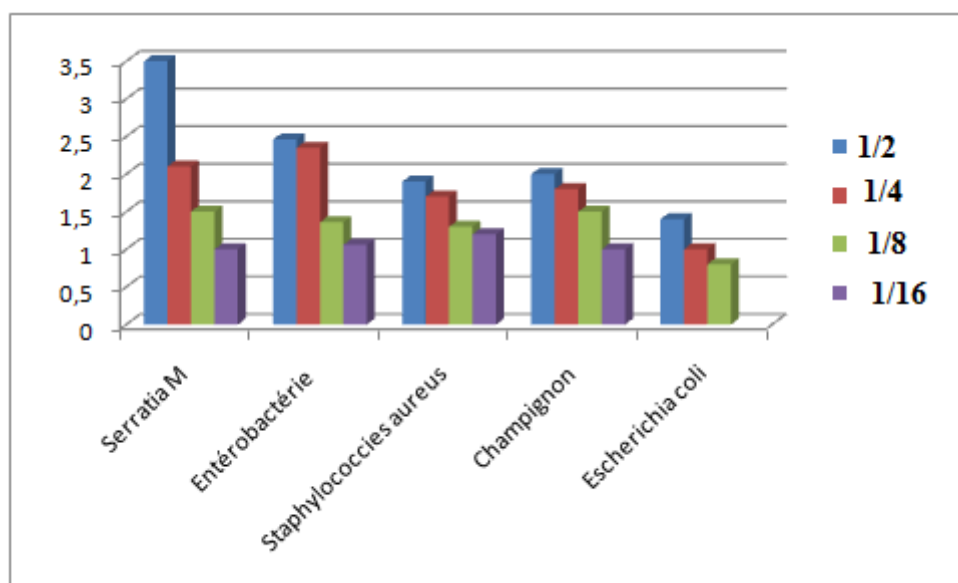
**Tableau 6** : Diamètres (mm) des zones d'inhibition de l'HE de Menthe.

	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
<b>Escherichia coli</b>	+	+	+	R	R	R	R	R	R
<b>Staphylococcus aureus</b>	++	++	+	+	R	R	R	R	R
<b>La Technique de l'Aromatogramme :</b>									
<b>Serratia M</b>	+++	+++	++	+					
<b>Entérobactérie</b>	+++	+++	+	+					
<b>Champignon</b>	+++	++	++	+					

D'après les résultats de *la Technique de diffusion en puits* réalisée avec d'huile essentielle diluée par DMSO sur deux souches antibactériennes : **Escherichia coli** et **Staphylococcus aureus** représentées dans le **tableau 6**

L'analyse de l'effet de la concentration de l'huile de Menthe sur l'évolution de la Concentration des *Staphylocoques* montre que la concentration des bactéries diminue Exponentiellement avec la concentration de l'huile essentielle de Menthe (**tableaux 6**). Les bactéries disparaissent totalement pour une concentration en huile de Menthe de 1/32. Ainsi, la diminution d'*Escherichia coli* est brusque dans concentration en huile essentielle de Menthe de 1/16.

De même pour la méthode d'Aromatogramme la plus grande zone d'inhibition est enregistrée avec **Serratia M** (35 mm), suivi par **Entérobactérie** (2.46 mm). Ces 2 espèces sont donc les plus sensibles à l'huile essentielle diluée par DMSO de Menthe.



**Histogramme 01** : diamètres de la zone d'inhibition en présence d'huile essentielle diluée par DMSO du Menthe.

On constate que dans les premiers stades des dilutions, le diamètre des zones d'inhibition diminue rapidement suivie d'une disparition totale des zones d'inhibition, si on continue la dilution des zones d'inhibition atteindra une valeur finale (stationnaire).

De ces expériences, on déduit que le pouvoir désinfectant de l'huile de Menthe est moins efficace quand la concentration de l'huile essentielle diminue quelque soit le type de bactérie ciblée.

Les valeurs obtenues par **BELAIDI SALIHA [41]** sont légèrement différentes des nôtres [41]. Ainsi, la taille des zones d'inhibition obtenues par méthode d'**Aromatogramme et Technique de diffusion en puits** dépend de sa composition chimique et des conditions d'extraction à savoir le type d'hydro-distiller, le rapport volume HE/ Volume DMSO.

Les bactéries de **gram -** sont généralement plus sensibles à l'huile essentielle que les bactéries de **gram +**. Toutefois, l'huile essentielle à faible concentration (**0.5 à 0.125 ml/ml**) ont une activité antibactérienne contre les bactéries pathogènes, les composés **phénoliques** sont les plus actifs et agissent principalement [40].

## Chapitre IV : Résultat et discussion

---

Les résultats de notre travail ont mis en évidence une forte activité **antibactérienne** d'huiles essentielles de Menthe contre les souches : **Escherichia coli** **Staphylococcus aureus** **Serratia M** **Entérobactérie** CHAMPINION.

Cette huile étudiée est d'origine algérienne, connues par leur usage thérapeutique en médecine traditionnelle. Cette dernière appartient à la famille des Lamiacée les plus représentées en médecine populaire pour le traitement des affections extra-buccales (digestives, respiratoires...) et buccales (tuméfactions gingivale, stomatite...)

L'analyse et l'interprétation des résultats de l'effet des l'huiles essentielles sur la croissance des différentes souches microbiennes testées, montrent que l'huile essentielle de *Menthe* possède une activité antimicrobienne contre les bactéries Gram+ et Gram- [37] affirment que l'activité antimicrobienne des huiles essentielles est due à la présence des alcools à longues chaînes et des composés phénols qui inhibent la croissance des bactéries. Plus les teneurs en phénols sont élevées, plus les extraits sont efficaces, ceci explique la sensibilité de la souche étudiée qui semble augmenter avec l'augmentation de la concentration en extrait actif.

**Conclusion:**

## Conclusion général:

---

### Conclusion :

La recherche sur L'huile essentielle de Menthe (Nanaa), est un extrait végétal de la feuille. Les substances naturelles à partir des plantes, participe à l'effort national de conservation des plantes médicinales et à la valorisation de la médecine traditionnelle locale.

Des études préliminaires phytochimiques des plantes médicinales et propriétés antibactériennes des huiles essentielles ont été effectuées.

La présence d'un certain nombre de groupes chimiques susceptibles d'activités pharmacologiques a été mise en évidence : Les alcaloïdes, Les saponosides (test de mousse), Les flavonoïdes, Les tannins, Les stérols, Huiles volatiles, Anthocyanes et les Quinones.

Vu des résultats obtenus lors des différents screening effectués sur le Menthe verts, ces résultats nous ont permis de nous orienter vers l'extraction et l'étude des huiles essentielles. L'extraction d'huile essentielle de Menthe verte a été réalisé par hydrodistillation (type Clevenger) est une opération qui nécessite un temps ambiant de 2 heures, sous température d'ébullition du solvant du choix. L'extrait c'est mélange d'une huile essentielle et Eau florale.

L'huile essentielle est un liquide à une couleur jaune pâle, et une odeur très aromatique fixant. On note un rendement qui ne dépasse pas 1.24 % d'huile essentielle.

L'évolution de l'activité antibactérienne vis-à-vis d'huile essentielle Menthe est déterminée selon la méthode de diffusion sur gélose (aromatogramme et La *Technique de diffusion en puits*), en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition. À l'état dilué, les expériences montrent une inhibition très importante de la croissance des bactéries testées. Les diamètres d'inhibition, autour des disques, sont importants pour toutes les bactéries testées (*Escherichia. coli*, *Staphylococcus aureus* *Serratia M* Entérobactérie Champignon) Il est important de signaler que les bactéries à GRAM (-) (*Serratia M*) sont plus sensibles à l'huile de Menthe que les bactéries à GRAM (+).

Selon le diamètre d'inhibition observé, l'espèce, *Serratia M* présente une extrême sensibilité à l'huiles de Menthe (diamètre d'inhibition = 35 mm), alors que les espèces *Escherichia coli*, dont le diamètre d'inhibition allant de 0,8 à 14 mm présentent une faible sensibilité.

## Références bibliographiques

- [1] BADI yahaouia et FATES zolikha, extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale (myrte vue de l'obtention de diplôme de licence chimie analytique el-tarf 20015-2016
- [2] Ernest Smal, paul M.caling 1904 : les cultures médicinales canadiennes, page 01.
- [3] R. Anton ; (1999), Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinales science et thérapeutique. Edition française.
- [4] Valnet J., 1983.phytothérapie, traitement des maladies par les plantes. Paris, édition Maloine S.A.,5<sup>o</sup>édition, vol. 01 ,942 p.
- [5] Source de laboratoire de biotechnologie d'Université Badji Mokhtar d'annaba
- [6] Mekahli et Boubssil, 2007 : Etude histologique de la feuille d'une plante médicinale (PM) de la famille des Ericacées : Erica arborera L dans la région du parc National d'El kala.
- [7] Gouasmia.H, et Boutouata.N, 2005 : « Etude ethnobotanique et thérapeutique des plantes médicinales dans l'EST Algérien,' cas de wilaya de tébessa'.Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de pharmacien d'état, département de pharmacie, faculté de médecine, université d'annaba. p: 6-14-48
- [8] Abdelli N et Khedimi M,2008 : Etude de trois plantes médicinales 'Myrtus communus L, Lavandula stoechas L et Thymus numidicus ' extraction et identification de leurs huiles essentielles au niveau de deux régions : Ain khyar(wilaya d'el teref) et Seraidi (wilaya d'annaba) . Mémoire de fin d'étude vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie en biotechnologie et amélioration des plantes. P : 07,08
- [9] Hamdaoui S, 2007: Détermination de l'effet bactéricide et bactériostatique d'une plante utilisée en médecine traditionnelle algérienne (Teucrium sp). Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état une biologie. Centre universitaire d'el- teref ; p5
- [10] Paul, ferdinand : guide plantes médicinales, analyse, description et utilisation de 400 plantes, édition : Delachaux, Nistlé page n : 8.
- [11] Abdelli noura el houda 2009 : étude de trois plantes médicinales « myrtus communus l, lavandula stoechas et thymus numidicus » extraction et identification de leurs huile essentielle au

niveau de deux régions : ain khiar (wilaya d'el taref et seraidi (wilaya annaba, page n : 04 mémoire de fin d'étude pour obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.

[12] Christophe Tardivon et Chadouli Si-Mohamed 2012 : Les plantes aromatique et médicinales un exemple de développement humain au Maroc la coopérative féminine de Ben Karrich Tétouan.

[13] Binet P. ET, Brunel J.-P., Physiologie Végétale. Tome II. Edit Doin, 2000,54.

[14] Addadi Hanaa et Ferradji Siham Milouda Extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale « La Menthe » l'obtention du diplôme Licence en chimie le : 16/06/2014.

[15] SIBOUKEUR né HADJI-Warda Mémoire Valorisation des huiles essentielles : Cas de l'utilisation de l'huile de cade dans les eaux Présenté pour l'obtention du diplôme de MAGISTER En Génie des procédés 18 / 06 /2013

[16] BATAH Rima Identification et profil de résistance de *Serratia marcescens* aux antibiotiques vue de l'obtention du diplôme de Doctorat EN MICROBIOLOGIE 2015-2016

[17] Fournet, J.( 2002).« Flore illustrée des phanérogame de Guadeloupe et de Martinique. Nouvelle édition revue et augmentée. CIRAD, Montpellier - Gondwana Editions, La Trinité. 2538 pp».

[18] [wikipedia.org/wiki/Menthe](http://wikipedia.org/wiki/Menthe)

[19] Bruneton J. (1999)- Pharmacognosie,phytochimie,plantes médicinales.3<sup>ème</sup> édition, Ed.TEC et DOC, Paris.

[20] BELYAGOUBI, L 2006 : mémoire fin d'étude de l'obtention du diplôme magester en biologie, option : Produits Naturels : « Activités Biologiques et Synthèses », thème : Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures de détérioration des céréales.

[21] Anonyme, 2008 : Encyclopédie des plantes médicinales, définition. P 10.

[22] Association Française de Normalisation, Recueil de normes Française « huiles essentielles », AFNOR, Paris. AFNOR NF T75-006.2000

[23] Chaker El Kalamounni, Thèse sur : Caractérisations chimiques et biologiques.

[24] Madhavi et al. , 1996

[25] AFNOR, Recueil des Normes Français « huile essentielles », AFNOR. Paris.1986.57p.

[26] La chimie de A à Z - 1200 définitions - Andrew Hunt - Dunod – 2006.

[27] KAFI NOUZHA et AHEM SAMIA, Thèse sur : Effet antibactérienne des huiles essentielles du *Rosmarinus officinalis* mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un diplôme de Master 2 option : Ressources phytogénétique et phytothérapie Année 2013/2014.P 26-27.

[28] <https://www.memoireonline.com>

[29] BOUGHRARA Boudjema, Thèse sur : Inventaire et étude ethnobotanique et chimique des plantes à intérêts thérapeutique et nutritif du Parc national El- kala pour obtenir le diplôme de Doctorat en Sciences Option : phytochimie Année 2016 P 68-73

[30] Koba K., Sanda K., Raynaud C., Nenonene Y.A., Millet J. et Chaumont J.P, 2004 : Activités antimicrobennes d'huile essentielles de trois *Cymbopogon* sp africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie. Ann. Méd. Vét, 148 : pp202-206

[31] <https://sante-medecine.journaldesfemmes.fr> mise à jour 23/06/2019

[32] <https://fr.m.wikipedia.org> mise à jour 23/06/2019.

[33] <https://www.futura-sciences.com> mise à jour 23/06/2019

[34] Zekri N., Amalich S., Boughdad A., El Belghiti M.A. & Zair T., 2013. Phytochemical study and insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. oils from Morocco against *Sitophilus oryzae*. *Mediterr. J. Chem.* **2(4)**: 607-619.

[35] Hajlaoui H, Trabelsi N, Noumi E, Snoussi M, Fallah H, Ksouri R et Bakhrouf A. (2009) Biological activities of the essential oils and methanol extract of two cultivated mint species (*Mentha longifolia* and *Mentha pulegium*) used in the Tunisian folkloric medicine. *World J Microbiol Biotechnol.* **25**, 2227–2238.

[36] Association française de normalisation (AFNOR), 2000. Recueil des Normes Françaises « huiles essentielles ». Tome 2 : Monographie relative aux huiles essentielles. Ed. AFNOR, Paris.

[37] Mecheri Fatiha et Akdif Nardjessa Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES l'obtention du diplôme de Master II 2016/2017

[38] Métali Mouna et Kerras Kheira Etude des activités antibactériennes et antioxydantes des extraits d'*Ocimum basilicum* (basilic) dans la région de Ain Defla Soutenu le : 27 Juin 2016.

[39] Addadi Hanaa et Ferradji Siham Milouda Thèse sur : Extraction d'huile essentielle d'une plante médicinale « **La Menthe** » pour l'obtention du diplôme Licence en chimie Setenu le : 16/06/2014.

[40] Mélanie turgis Radio-sensibilisation *Escherichia coli* et *Salmonella Typhi* en présence de composé bioactifs dans de la viande de bœuf haché mi-maigre pour l'obtention de grade de Maitre de science 2007

[41] BELAIDI SALIHA et BELAOUEDJ AHLEM , Thèse sur : Effet des extraits de la Menthe Poivrée (*Mentha Peperita*) chez *Staphylococcus aureus* responsable des infections uro-génitales. Pour l'obtention du diplôme de Master en Sciences Biologiques Spécialité: microbiologie fondamentale. Année : 2017/2018.P 08.